

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS, NATURAIS E DA SAÚDE - CCENS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGROQUÍMICA**

**WILKER PINHEIRO LIMA**

**EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Thymus vulgaris* E *Cinnamomun*  
*zeylanicum* E SEUS COMPONENTES MAJORITÁRIOS SOBRE O FUNGO  
*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici***

**ALEGRE - ES**

**2018**

WILKER PINHEIRO LIMA

**EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Thymus vulgaris* E *Cinnamomum zeylanicum* E SEUS COMPONENTES MAJORITÁRIOS SOBRE O FUNGO *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici***

Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Agroquímica do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Agroquímica, linha de pesquisa em Química Orgânica.  
Orientador: Prof. Dr.:Adilson Vidal Costa

ALEGRE - ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-publicação (CIP)  
(Biblioteca Setorial Sul, Universidade Federal do Espírito Santo, ES, Brasil)  
Bibliotecária: Lizzie de Almeida Chaves – CRB-6 ES-000871/O

---

L732e Lima, Wilker Pinheiro, 1990-  
Efeito dos óleos essenciais de *thymus vulgaris* e *cinnamomun zeylanicum* e seus componentes majoritários sobre o fungo *fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* / Wilker Pinheiro Lima. – 2018.  
59 f. : il.

Orientador: Adilson Vidal Costa.

Coorientadores: Vagner Tebaldi de Queiroz ; Willian Bucker Moraes.

Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde.

1. Tomate. 2. Óleos vegetais. 3. Fungos fitopatogênicos. I. Costa, Adilson Vidal. II. Queiroz, Vagner Tebaldi de. III. Moraes, Willian Bucker. IV. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde. V. Título.

CDU: 631.41

---

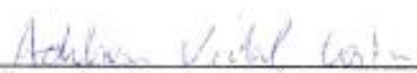
WILKER PINHEIRO LIMA

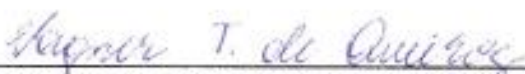
**EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Thymus vulgaris* E *Cinnamomum zeylanicum* E SEUS COMPONENTES MAJORITÁRIOS SOBRE O FUNGO *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici***


Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde-CCENS, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Agroquímica, linha de pesquisa em Química Orgânica.

Aprovado em 23 de fevereiro de 2018.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Adilson Vidal Costa**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**  
**Orientador**

  
\_\_\_\_\_  
**Prof. Dr. Vagner Tebaldi de Queiroz**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**

  
\_\_\_\_\_  
**Pesq. Dr. Leônidas Leoni Belan**  
**Universidade Federal do Espírito Santo**

A Deus;

Aos meus pais, ONÉSIO DELFINO DE LIMA e  
NILCÉIA DE AGUIAR PINHEIRO LIMA, pelo  
esforço, apoio, incentivo, educação e amor a  
mim concedidos durante essa jornada.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente quero agradecer a Deus pelas bênçãos derramadas em minha vida. A Ti Senhor, toda honra, toda glória e todo louvor!

Aos meus pais, Onésio Delfino de Lima e Nilcéia de Aguiar Pinheiro Lima, pela força, apoio incondicional e sustento.

Ao meu irmão e cunhada, Lineker Pinheiro Lima e Caroline De Melo Carvalho, por me apoiar e pela paciência.

Ao orientador, Prof. Dr. Adilson Vidal Costa, pela confiança, atenção e amizade.

Aos meus coorientadores, Prof. Dr. Willian Bucker Moraes e Prof. Dr. Vagner Tebaldi de Queiroz, pelas valiosas sugestões e conhecimento compartilhado.

Aos amigos, Caroline, Davi, José Romário, Leonardo Belan, Luan, Milena, Nathalia, Rafael (Ousadia), Renata, obrigado pelo apoio e ajuda nos experimentos, em especial a Débora Cristina Gonçalves e Laura Ribeiro por estarem sempre presentes. E aos integrantes do Laboratório de fitopatologia e funcionários.

À Universidade Federal do Espírito Santo, ao Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças (NUDEMAFI) e Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas Agrícolas e Florestais (LEMP), pelas condições de trabalho oferecidas.

À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo - FAPES e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, pela bolsa de mestrado e financiamento da pesquisa.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

Albert Einstein, 1905.

## RESUMO

LIMA, WILKER PINHEIRO. **EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Thymus vulgaris* E *Cinnamomun zeylanicum* E SEUS COMPONENTES MAJORITÁRIOS SOBRE O FUNGO *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*** 2018. 59p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde - CCENS, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2018.

RESUMO: O tomate é a hortalça de maior consumo no mundo, sendo uma cultura de importância econômica e social. Porém, em seu cultivo, é propício a incidência de diversas doenças, dentre elas pode-se destacar a murcha de Fusarium, causada pelo *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Sendo assim, objetivou-se com este estudo avaliar a atividade *in vitro* dos óleos essenciais (OEs) de *Thymus vulgaris* e *Cinnamomun zeylanicum* e seus componentes majoritários. A caracterização química dos OEs foi realizada por CG/DIC e CG/EM, tendo identificado o eugenol (77,95%) como componente majoritário do OE canela, o carvacrol (23,93%) e o timol (20,23%) do OE de tomilho. No ensaio foram calculados os valores de CE<sub>50</sub> e CE<sub>100</sub> do crescimento micelial de cada tratamento, sendo: OE de canela (171,79 e 575,18 ppm); OE de tomilho (106,29 e 341,73 ppm); eugenol (187,46 e 374,93 ppm); timol (88,67 e 193,02 ppm) e carvacrol (52,06 e 170,92 ppm). E, para esporulação, foram calculados os valores de: OE de canela (262,20 e 342,72 ppm); OE de tomilho (67,47 e 255,42 ppm); eugenol (80,94 e 359,55 ppm); timol (97,0 e 194,02 ppm) e carvacrol (44,66 e 113,82 ppm). Com isso, os óleos essenciais e seus componentes majoritários podem ser uma alternativa para o controle do *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Palavras-chave: Controle alternativo, Murcha de Fusarium, Tomate.



## ABSTRACT

LIMA, WILKER PINHEIRO. **EFFECT OF THE ESSENTIAL OILS OF *Thymus vulgaris* AND *Cinnamomun zeylanicum* AND ITS MAJORITY COMPONENTS ON THE FUNGUS *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*** 2018. 59p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, 2018.

**ABSTRACT:** The tomato is the most consumed vegetable in the world, and its cultivation has a great economical and social importance. However, in its cultivation, the incidence of several diseases is favorable, among them the *fusarium wilt*, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the *in vitro* activity of the essential oils (EOs) of *Thymus vulgaris* and *Cinnamomun zeylanicum* and their major components. The chemical characterization of (EOs) was performed by CG/DIC and CG/EM, it was identified eugenol (77,95%) as the major component of the cinnamon EO, the carvacrol (23,93%) and the thymol (20,23%) as the major component of the thyme EO. In the assay, they were calculated the values of EC50 and EC100 of the mycelial growth of each treatment, being cinnamon EO (171,79 and 575,18ppm); thyme EO (106,29 and 341,73ppm); eugenol (187,46 and 374,93ppm); thymol (88,67 and 193,02ppm) and carvacrol (52,06 and 170,92ppm). And for sporulation, the calculated values were of cinnamon EO (262,20 and 342,72ppm); thyme EO (67,47 and 255,42ppm); eugenol (80,94 and 359,55ppm); thymol (97,0 and 194,02ppm) and carvacrol (44,66 and 113,82ppm). Therefore, the EOs and their major components may be an alternative for the *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* control.

**Keywords:** Alternate control, Fusarium wilt, Tomato.

## LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
	REVISÃO DE LITERATURA	
Figura 1 -	Esquema do ciclo da murcha de Fusarium do tomateiro ( <i>Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici</i> ).....	20
Figura 2 -	Fórmulas estruturais do timol e do carvacrol.....	25
Figura 3 -	Fórmula estrutural do eugenol.....	26

## LISTA DE ABREVIATURAS

BDA - Batata-dextrose-ágar

BOD - Câmara de crescimento de demanda bioquímica de oxigênio

CCAIE - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias

CE – Concentração efetiva

CE<sub>50</sub> – Concentração efetiva para inibir 50% do crescimento micelial

CE<sub>100</sub> – Concentração efetiva para inibir 100% do crescimento micelial

CM - Crescimento micelial

CM<sub>Testemunha</sub>: valor do crescimento micelial da testemunha (controle);

CM<sub>Tratamento</sub>: valor do crescimento micelial de cada tratamento

DIC - Delineamento experimental inteiramente casualizado

DMSO - Dimetilsulfóxido

LEMP - Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas Agrícolas e Florestais

NUDEMAFI - Núcleo de Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Manejo Fitossanitário de Pragas e Doenças

OE - Óleo essencial

PIC: Porcentagem de inibição do crescimento micelial

PIE: Porcentagem de inibição do número de esporos

ppm – Parte por milhão

Sp - *formae speciales*

UV - Ultravioleta

## LISTA DE TABELAS

Tabela		Página
REVISÃO DE LITERATURA		
Tabela 1	Doenças bióticas da cultura do tomateiro ( <i>Solanum lycopersicum</i> ).....	17
CAPÍTULO 1		
Tabela 1	Constituintes químicos dos óleos essenciais de <i>Cinnamomun zeylanicum</i> e <i>Thymus vulgaris</i> , em porcentagem, e seus respectivos índices de Kovats calculado (IK <sub>calc.</sub> ) e tabelado (IK <sub>tab.</sub> ).....	42
Tabela 2	Modelos de equação de regressão obtidos a partir da avaliação dos óleos essenciais de <i>Cinnamomun zeylanicum</i> (canela) e <i>Thymus vulgaris</i> (tomilho) e seus componentes majoritários carvacrol, eugenol e timol contra o crescimento micelial e números de esporos de <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> em meio de batata-dextrose-ágar (BDA).....	44

## SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	16
2.1. Cultura do tomateiro .....	16
2.1.1. Origem e produção.....	16
2.1.2. Doenças .....	17
2.2. Murcha de Fusarium ( <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> ) .....	1849
2.2.1. Etiologia.....	19
2.2.2. Sintomatologia.....	19
2.2.3. Manejo da Murcha de Fusarium ( <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ) .....	21
2.3. Óleos Essenciais .....	22
2.3.1. Óleo essencial de <i>Thymus vulgaris</i> .....	24
2.3.2. Óleo essencial de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> .....	26
<b>3 - REFERÊNCIAS</b> .....	28
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	35
<b>1. Introdução</b> .....	37
<b>2. Material e Métodos</b> .....	38
2.1. Material.....	38
2.2. Caracterização química.....	38
2.3. Ensaio biológico .....	39
2.4. Análise estatística .....	41
<b>3. Resultados e Discussão</b> .....	41
3.1 Análise da composição química dos óleos essenciais .....	41
3.2 Ensaio biológico .....	43
<b>4. Referências</b> .....	46
<b>APÊNDICE</b> .....	50
<b>APÊNDICE A - Análise de dados canela PIC e PIE</b> .....	50
<b>APÊNDICE B - Análise de dados eugenol PIC e PIE</b> .....	52
<b>APÊNDICE C - Análise de dados timol PIC e PIE</b> .....	54
<b>APÊNDICE D - Análise de dados tomilho PIC e PIE</b> .....	56

	<b>Página</b>
<b>APÊNDICE E - Análise de dados carvacrol PIC e PIE .....</b>	<b>58</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O tomate é um alimento de importância social e econômica, contribuindo para a fixação do homem no campo ao gerar trabalho e renda, pois apresenta valor comercial e exige mão de obra no manejo dessa cultura. No entanto, em condições climáticas favoráveis ao desenvolvimento de fungos, a cultura está sujeita a uma série de doenças, as quais podem acarretar graves prejuízos se não forem devidamente controladas (GUO et al., 2013).

A murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*) é uma das doenças importantes do tomateiro, causando prejuízos em cultivares suscetíveis, devido à colonização vascular pelo fungo e à dificuldade econômica do controle químico (GULLINO et al., 2015). O controle mais eficiente da murcha de Fusarium é a utilização de variedades resistentes a esse fungo, no entanto, algumas restrições no combate genético contra patógenos vasculares, como nível de resistência parcial e superação da resistência pelo aparecimento de novas raças fisiológicas, têm sido observadas (FERRAZ et al., 2014).

Dessa forma, a busca por métodos alternativos visando o manejo dessa doença é de ampla importância. Uma interessante estratégia que pode ser aplicada na busca de novos compostos para o controle de fungos é a utilização de óleos essenciais (OEs), derivados do metabolismo secundário de diversas plantas, os quais apresentam uma fonte abundante de substâncias estruturalmente diversificadas, biologicamente ativas e na maioria biodegradáveis. Com base nessa informação, diversos pesquisadores têm realizado trabalhos sobre a avaliação da bioatividade contra fungos que atacam culturas agrícolas de relevância mundial. (KOUL et al., 2008; CHAUDHARY et al., 2011; KUMRUNGSEE et al., 2014, BUCKLE, 2003).

Em virtude da crescente necessidade de novos métodos de controle racional e eficiente para a murcha de Fusarium, objetivou-se, com este trabalho, avaliar o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum zeylanicum* e seus componentes majoritários sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, visando a avaliação dos mesmos como uma alternativa a ser utilizada em programas de manejo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Cultura do tomateiro

#### 2.1.1. Origem e produção

O tomateiro (*Solanum lycopersicum*) pertencente à classe Dicotyledoneae, ordem Tubiflorae e família Solanaceae (ALVARENGA, 2013). Tem seu centro de origem primário relatado no território compreendido entre Equador e Chile. No Brasil, foi introduzido por imigrantes europeus no final do século XIX (ALVARENGA, 2013).

O tomateiro é cultivado em vários países, sendo os três principais produtores mundiais: a China, a Índia e os Estados Unidos, respectivamente. O Brasil ocupa o nono lugar entre os maiores produtores (FAOSTAT, 2017).

No Brasil, estima-se que na safra de tomate de 2017 foram plantados 59.866 ha com a cultura, com a produção esperada de 3.967.468 toneladas e a produtividade esperada de 66.272 kg/ha. As regiões Centro-oeste e sudeste são as maiores produtoras, destacando-se os estados de Goiás, com 28,6% de participação na produção nacional, São Paulo com 19% e Minas Gerais com 17%. O Espírito Santo tem 3,9% de participação na produção nacional (IBGE, 2017).

O tomate é a hortaliça mais consumida no mundo, sendo utilizado na forma *in natura* ou processado como molhos e extratos. Além de ser apreciado pelo sabor, tem vitaminas (A, B1, B2, B6, C e E), minerais como fósforo, potássio, magnésio, manganês, zinco, cobre, sódio, ferro e cálcio, possui proteínas, carboidratos, frutose, fibras, ácido fólico, ácido tartárico e ácido salicílico, além do licopeno (JARAMILLO et al., 2007; NEITZKE; BÜTTOW, 2008; VALERO et al., 2011).



### 2.1.2. Doenças

O tomateiro é influenciado por uma série de fatores que podem limitar a sua produtividade (ABCSEM, 2011). Dentre esses fatores, encontram-se as doenças bióticas (cujos agentes etiológicos são fungos, bactérias, vírus, nematoides, entre outros) (Tabela 1) ou abióticas (temperaturas extremas, desequilíbrio nutricional, déficit ou excesso hídrico, fitoxidez, entre outros) (GÓMEZ, et al., 2000; LOPES & AVILA, 2005). Sendo que algumas podem ocorrer ao mesmo tempo na planta.

TABELA 1 – Doenças bióticas da cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum*).

Agentes	Doenças
Bactérias	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Cancro bacteriano – <i>Clavibacter michiganensis</i> sub sp. <i>Michiganensis</i>;</li> <li>✓ Mancha bacteriana – <i>Xanthomonas vesicatoria</i>, <i>X. euvesicatoria</i>, <i>X. perforans</i> e <i>X. gardneri</i>;</li> <li>✓ Pinta bacteriana – <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>;</li> <li>✓ Murcha bacteriana – <i>Ralstonia solanacearum</i>;</li> <li>✓ Podridão mole e talo oco - <i>Pectobacterium</i> spp. e <i>Dickeya</i> spp.;</li> <li>✓ Necrose da medula – <i>Pseudomonas corrugata</i> e <i>P. mediterrânea</i>.</li> </ul>
Fungos	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Cancro das hastes – <i>Alternaria alternata</i> f.sp. <i>lycopersici</i>;</li> <li>✓ Mancha de <i>Stemphyllium</i> - <i>Stemphyllium lycopersici</i> e <i>S. solani</i>;</li> <li>✓ Mela de rizoctonia – <i>Rhizoctoniasolani</i></li> <li>✓ Mancha de <i>Cladosporium</i> – <i>Passalora fulva</i> (sin. <i>Cladosporium fulvum</i> e <i>Fulvia fulva</i>);</li> <li>✓ Mancha de <i>Corynespora</i> – <i>Corynespora cassicola</i>;</li> <li>✓ Mofo Branco ou Podridão de <i>Sclerotinia</i> - <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> e <i>S. minor</i>;</li> <li>✓ Murcha de <i>Fusarium</i> – <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>;</li> <li>✓ Murcha de <i>Verticillium</i> – <i>Verticillium dahliae</i>;</li> <li>✓ Oídios – <i>Oidium neolycopersici</i> e <i>Oidiopsis haplophylli</i>;</li> <li>✓ Pinta preta ou Mancha de <i>Alternaria</i> – <i>Alternaria tomatophila</i>;</li> <li>✓ Podridão de esclerocio – <i>Sclerotium rolfsii</i></li> <li>✓ Requeima – <i>Phytophthora infestans</i></li> </ul>

Continuação

TABELA 1 – Doenças bióticas da cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum*).

Agentes	Doenças
Fungo	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Septoriose ou Mancha de <i>Septoria</i> – <i>Septoria lycopersici</i>;</li> <li>✓ Tombamento de mudas – Fungos e Oomicetos.</li> </ul>
Vírus	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Vira-cabeça do tomateiro – <i>Tomato spottwd wilt virus</i> – TSWV, <i>Tomato chlorotic spot virus</i> – TCSV, <i>Groundnut ringspot virus</i> – GRSV e <i>Chrysanthemum stem necrosis</i> - CSNV;</li> <li>✓ Amarelão – <i>Tomato chlorosis virus</i> – ToCV;</li> <li>✓ Risca – <i>Potato virus Y</i> – PVY;</li> <li>✓ Mosaico Amarelo – <i>Pepper yellow mosaic</i> – Pep YMV;</li> <li>✓ Moisaco – <i>Tomato mosaic virus</i> - ToMV</li> <li>✓ Moisaco Dourado – <i>Tomato severe rugose virus</i> – ToSRV, <i>Tomato mottle leaf curl virus</i> – TMoLCV, <i>Tomato Golden vein virus</i> – TGVV, <i>Tomato chlorotic mottle</i></li> <li>✓ vírus – ToCMoV, <i>Tomato common mosaic virus</i> – ToCmMV, <i>Tomato yellow vein streak virus</i> – ToYVSV, <i>Tomato yellow spot virus</i> – ToYSV e outros.</li> </ul>
Nematoide	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Nematoide das Galhas - espécies do gênero <i>Meloidogyne spp.</i>;</li> <li>✓ Nematoide das Lesões Radiculares – <i>Pratylenchus spp.</i></li> </ul>

**Fonte:** Adaptada de Manual de Fitopatologia- Volume 2- Doenças das Plantas Cultivares Quinta edição. 2016.

A importância das doenças em plantas é devida sua intensidade em causar danos à cultura, ocasionando redução no rendimento da produção e gerando perdas para os produtores, ou seja, as doenças reduzem a produtividade e a qualidade dos frutos (BARTON, 2016). De acordo com Ghorbanpour et al. (2017), as doenças podem causar uma redução de aproximadamente 10–16% da produção mundial de alimentos anualmente.

## 2.2. Murcha de *Fusarium* (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*)

### 2.2.1. Etiologia

O agente etiológico do gênero *Fusarium* infecta diversos hospedeiros. As características morfológicas e patogênicas desse patógeno geram uma classificação dividida em seções, *formae speciales* e raças (OLIVEIRA & COSTA, 2002). Snyder e Hansen (1953) conceituaram *formae speciales* sendo isolados patogênicos morfológicamente semelhantes, mas distinguem a sua habilidade de parasitar hospedeiros específicos.

De acordo com a espécie hospedeira infectada, esse fungo é classificado em mais de 120 diferentes *formae speciales* e raças (KRÓL et al., 2015). O *Fusarium oxysporum* que infecta o tomateiro é a *formae speciales lycopersici*, e já foram registradas três raças fisiológicas classificadas como raça 1, 2 e 3. (CAI et al, 2003).

Esse fitopatógeno pode permanecer no solo sem a presença do hospedeiro, pois possui clamidósporos permitindo sua sobrevivência por mais de 10 anos (KRÓL et al., 2015).

### 2.2.2. Sintomatologia

O *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* encontra-se em quase toda a região onde é cultivado o tomateiro. Esse fungo pode infectar as plantas em quaisquer estágios de desenvolvimento do tomateiro, porém ocorre a infecção principalmente em plantas no início do período de florescimento e frutificação (MELO, 2001).

Nos solos infestados ocorre a germinação dos esporos após penetração nas raízes da planta por aberturas naturais ou ferimentos. O micélio avança em direção ao córtex radicular até chegar aos vasos do xilema. Então o micélio ramifica-se e o fungo produz conídios, os quais serão conduzidos no sentido ascendente do fluxo da seiva (AMORIM et al, 2016). Esses microconídios que estão nos vasos do xilema germinam onde se fixaram e o micélio penetra a parede superior do vaso e mais conídios são produzidos no vaso. A combinação desses processos provoca o entupimento dos vasos por micélio, esporos, géis, gomas, a formação de calos e o

esmagamento dos vasos por proliferação adjacente das células do parênquima, observado na figura 1 (AGRIOS, 2005).

Esse entupimento provoca interrupção do fluxo de água da planta, logo, a planta transpira mais água, as raízes não conseguem absorver a mesma quantidade de água e o caule interrompido não possibilita fluxo de seiva, ocasionando o sintoma de murcha na parte aérea da planta, ou seja, proporciona amarelecimento geral, com início nas folhas inferiores e progredindo para o terço superior, seguindo de murcha generalizada da planta posterior, ocorrendo a morte na planta (MCGOVERN, 2015).

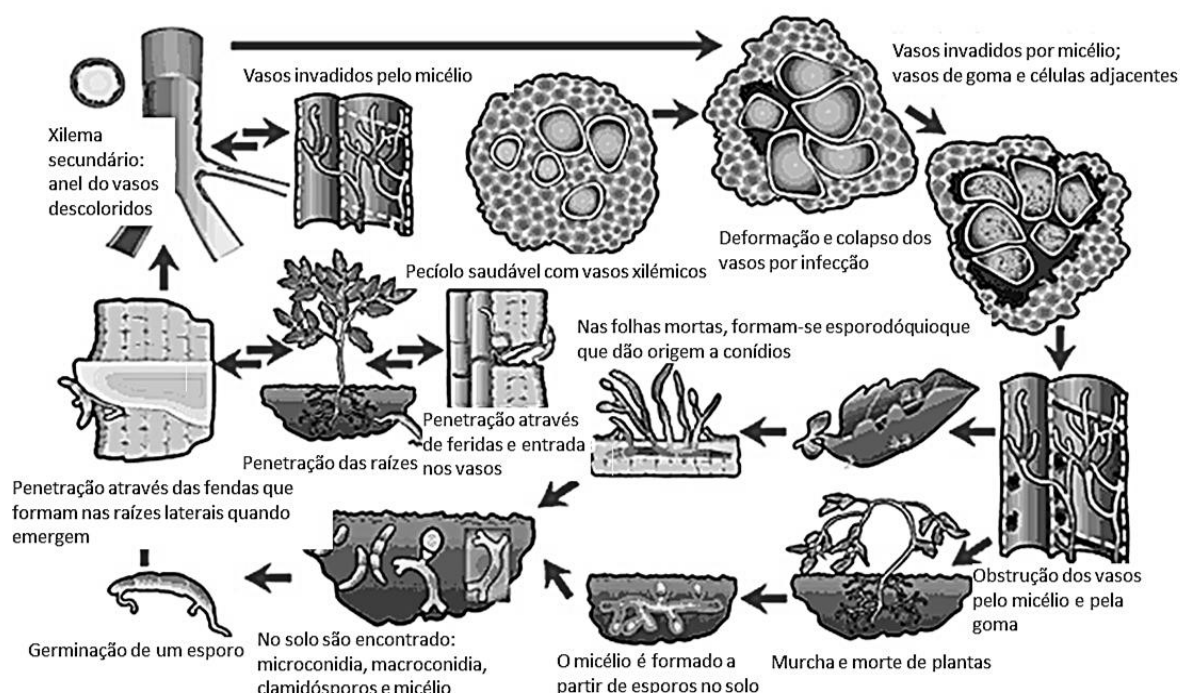


Figura 1: Esquema do ciclo da murcha de Fusarium do tomateiro (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*).

FONTE: adaptado de AGRIOS, 2005.

Quando o patógeno é disseminado por sementes, debilita as mudas, provoca lesões da haste e podridão de colo após a emergência (KRÓL et al., 2015), tornando seu manejo dificultado e caracterizando-se como um dos agentes patogênicos de solo mais importante (LARENA et al., 2003; HASHEM et al., 2010; LAURENCE et al., 2014).

### 2.2.3. Manejo da Murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*)

A murcha de Fusarium em plantas de tomateiro é uma doença na qual a identificação do patógeno é difícil e seus sintomas são irreversíveis, ou seja, não é possível reverter os danos do fungo à cultura, ocorrendo a morte da planta, sendo descritas perdas de 45% da produção na Índia e observadas 100% de incidências da murcha de Fusarium nos Estados Unidos (MCGOVERN, 2015).

Com isso, no controle da murcha de Fusarium têm sido aplicadas medidas que envolvem: i) uso de cultivares resistentes; ii) correção da fertilidade do solo (calagem; evitar o uso de micronutrientes; evitar o excesso de fósforo e magnésio; aplicar nitrogênio na forma de nitrato, evitando a forma amoniacal; aplicar fertilizantes próximo às raízes e não diretamente na cova); iii) impedir a drenagem de água de local infestado para novas áreas de plantio; iv) permitir que o solo descanse antes do plantio; v) uso da rotação de culturas com plantas não hospedeiras por cinco a sete anos; vi) prevenir a disseminação do patógeno eliminando o movimento de solo infestado, bem como o trânsito de máquinas, animais e operários de lavouras doentes para áreas livres da doença; vii) eliminar os restos culturais, diminuindo, assim, o inóculo inicial para o próximo ciclo da cultura (BECKMAN, 1987; JONES, 1991; LOPES & SANTOS, 1994; AGRIOS, 2005; AMORIM et al, 2016).

Medidas de erradicação, como a queima dos restos culturais para diminuir a quantidade de inóculo, seriam relevantes se todos os produtores as adotassem concomitantemente, o que na maioria das vezes não ocorre nas regiões onde produzem o tomate (VALE et al., 2004).

Nas áreas onde a murcha de Fusarium ainda não ocorre, o manejo pelo princípio da exclusão, visando o impedimento da entrada do patógeno na área de cultivo, é o mais importante (COSTA et al., 2007).

Em áreas onde o patógeno já se encontra estabelecido, um dos métodos mais eficazes de controle de perdas causadas pelo fungo é o controle genético, por meio do plantio de cultivares resistentes (REIS et al., 2005). No entanto, essas cultivares não são propícias para todas as regiões onde são cultivadas o tomateiro e surgimento de novas raças fisiológicas de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tem sido um fator preocupante em áreas onde se cultiva o tomateiro (LOPES et al., 2005).

A murcha de *Fusarium* do tomateiro só pode ser controlada eficientemente quando é adotado um adequado programa de manejo integrado, envolvendo o uso de variedades resistentes e a adoção de medidas de exclusão, erradicação e proteção; pois nenhum método de controle tem alta eficácia isoladamente (ALVES & MARTINS, 2013).

Desse modo, torna-se necessário a busca por métodos alternativos de controle viável econômica e ecologicamente seguro ao controle da doença. Nesse contexto, as pesquisas com substâncias derivadas de produtos naturais, como extratos e óleos essenciais provenientes de plantas, são uma alternativa ao manejo de doenças (SHALABY, 2013).

Óleos essenciais diminuem o número de esporos e/ou o tempo de germinação dos esporos dos fungos, o crescimento micelial do fungo, a formação de apressório, além de interferir no crescimento de hifas ou produção de esporos, ou ainda por induzir mecanismos de resistência da planta (BEN JABEUR & HAMADA, 2015). Com isso, os óleos essenciais apresentam-se como uma alternativa para o manejo de doenças em plantas.

### **2.3. Óleos Essenciais**

Os vegetais sintetizam variados números de compostos orgânicos que aparentemente não apresentam função no seu crescimento e desenvolvimento. Essas substâncias são denominadas metabólitos secundários, produtos secundários ou produtos naturais. De modo geral, esses compostos não apresentam funções diretas nos processos de fotossíntese, respiração, transporte de solutos, translocação, síntese de proteínas, assimilação de nutrientes, diferenciação ou síntese de carboidratos, proteínas e lipídeos (TAIZ & ZEIGER, 2009).

Os metabólitos secundários, embora não necessariamente essenciais para a planta completar seu ciclo de vida, desempenham papel na interação das plantas com o meio ambiente. Eles podem atuar, por exemplo, na defesa da planta contra herbívoros, ataque de patógenos, competição entre plantas e atração de organismos benéficos como polinizadores, dispersores de semente e nas simbioses plantas-microrganismos (GARCÍA & CARRIL, 2011).

Os óleos essenciais (OEs) são exemplos de substâncias provenientes desse metabolismo secundário e podem ser definidos como resultantes de uma mistura complexa de substâncias voláteis, lipofílicas, líquidas e odoríferas. Sua constituição química variada pode conter hidrocarbonetos, álcoois, aldeídos, cetonas, fenóis, éteres, ésteres, óxidos, peróxidos, ácidos orgânicos, lactonas, cumarinas e até enxofre, os quais se dispõem em diferentes concentrações, no entanto quase sempre com predominância de um composto, denominado componente majoritário (SIMÕES & SPITZER, 2007).

Óleos essenciais podem ser produzidos a partir de todas as partes das plantas (brotos, gomas, flores, folhas, caules, galhos, sementes, frutos, raízes, madeira ou casca). Os OEs são armazenados em várias estruturas secretoras, tais como células epidérmicas, pêlos secretores, canais secretores, cavidades secretoras, tricomas glandulares ou adutos de resina (BAKKALI et al., 2008; SILVA et al., 2012; ENS et al., 2009).

O grupo de plantas com maior teor de óleos essenciais são as angiospermas dicotiledôneas, principalmente as que pertencem às famílias Asteraceae, Apiaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Myristicaceae, Piperaceae e Rutaceae (SIMÕES & SPITZER, 2007; TISSERAND & YOUNG, 2013).

Algumas das plantas conhecidas por apresentarem maiores teores de óleos essenciais são, por exemplo, o orégano (*Origanum* spp.), o coentro (*Coriandrum sativum*), o eucalipto (*Eucalyptus* spp.), a artemísia (*Artemisia* spp.), a cânfora (*Cinnamomum camphora*), a hortelã-pimenta (*Mentha piperita*), entre outras (HRCKOVA & VELEBNY, 2012).

Óleos voláteis obtidos de diferentes órgãos de uma mesma planta podem apresentar composição química, características físico-químicas e odores bem distintos. Vale ressaltar que a composição química do óleo essencial extraído do mesmo órgão de uma mesma espécie vegetal também pode variar de modo significativo, de acordo com fatores ambientais, interações entre planta/planta, planta/ microrganismos, plantas/insetos e outros fatores como idade, estágio de desenvolvimento, fatores abióticos como luminosidade, temperatura, pluviosidade, nutrição, época e horário de coleta (MORAIS, 2009).

A composição química dos OEs também pode variar de acordo com o método e as condições de secagem aplicadas ao material vegetal antes da extração, e

também de acordo com as condições de armazenamento (SILVA et al., 2005; BARBOSA et al., 2006; LEMOS et al., 2012; PIMENTEL et al., 2013).

Com isso, os OEs têm aplicações nas mais diversas áreas, como nas indústrias de perfumes, de cosméticos, farmacêutica, alimentícia, de bebidas, na medicina popular, e também como constituintes de materiais de limpeza (BAKKALI et al., 2008).

Adicionalmente, os óleos essenciais apresentam-se como uma possível ferramenta a ser usada em atividades agrícolas no controle de diversas pragas. OEs de diferentes espécies apresentam comprovada atividade microbiana; atividades inseticida, acaricida e fungicida também foram relatadas para os óleos voláteis (BASTOS & ALBUQUERQUE, 2004; DUKE et al., 2002).

OEs como o de tomilho (*Thymus vulgaris*) e canela (*Cinnamomun zeylanicum*), juntamente com seus principais componentes, já foram identificados com potencial para o controle de fungos patogênicos para plantas por pesquisadores como Klaric et al., (2007), Vilaplana et al., (2018), Soliman & Badeaa (2002), Xing et al. (2014). E esses óleos essenciais e seus componentes majoritários podem ser adquiridos por empresas como Quinarí, Destilaria Bauru Ltda e Sigma-Aldrich.

### **2.3.1. Óleo essencial de *Thymus vulgaris***

*Thymus vulgaris*, popularmente conhecida como tomilho, é uma planta exótica e aromática pertencente à família Lamiaceae, originária dos países mediterrânicos e dos países vizinhos, norte da África e partes da Ásia. É um arbusto que cresce até 50 cm de altura e suas flores são brancas ou roxas, com caule tortuoso e lenhoso, com ramos com cor acinzentada eretos e compactos. Tem as folhas pequenas, sésseis, lanceoladas, esbranquiçadas na fase inferior (PANDA, 2006; OZCAN & CHALCHAT, 2004; CORREA JR, et al. 1994).

O gênero *Thymus* é um grupo taxonomicamente complexo devido ao seu polimorfismo químico, ou seja, uma mesma molécula terem várias estruturas tridimensionais cristalinas bastante distintas. A palavra tomilho é um nome genérico para mais de trezentas espécies de *Thymus*, híbridos, variedades e ecótipos, empregadas como condimentos alimentares, plantas aromáticas, ornamentais e





46,6% em 14 dias, 37,2% em 21 dias e 30% durante a vida de prateleira, sendo superior ao fungicida químico em todas as avaliações.

### 2.3.2. Óleo essencial de *Cinnamomun zeylanicum*

A canela (*Cinnamomun zeylanicum*) pertencente à família Lauraceae. O gênero *Cinnamomun* compreende cerca de mais de 250 espécies, essas são utilizadas como medicamentos populares por suas características bioativas, como infecções antidiabéticas, anti-inflamatórias, intestinais, adstringentes e diuréticas (HUANG et al., 2003; WANG et al., 2005).

A canela é uma espécie arbórea endêmica crescente nas florestas, encontradas em altitudes entre 400 e 1500 metros (JAYAPRAKASHA et al., 2003). Sendo habitualmente utilizada na culinária em alimentos e bebidas de valor comercial (CHUA et al., 2008).

O eugenol (2-metoxi-4-prop-2-enilfenol), com a fórmula estrutural na figura 3, é o constituinte químico majoritário da folha de canela e encontrado também nos botões de cravo (BENCHAAAR et al., 2002). Tem seu aroma característico, com isso, tem sido utilizado nas indústrias de cosméticos e produtos alimentícios (GILL & HOLLEY, 2004; SABAA & MOHAMED, 2007); além de ter propriedades antifúngicas, antimicrobianas e antioxidantes (BI et al., 2016; SANTO et al, 2017) e também usado em matérias de embalagem de alimentos (WORANUCH & YOKSAN, 2013).

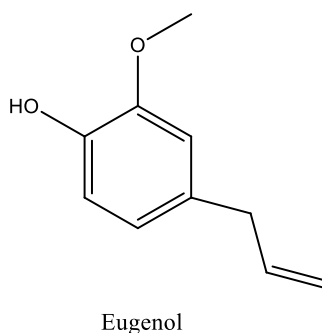


Figura 3 - Fórmula estrutural do eugenol.

Em relação à atividade antifúngica, o gênero *Cinnamomun* apresenta atividade antifúngica contra *Fusarium graminearum*, *F. moniliforme*, *Penicillium citrinum*, *P. viridicatum* e *Aspergillus terreus*, como descrito por Singh et al. (2007). Soliman & Badeaa (2002) descreveram que após avaliação na concentração  $\geq 1000 \mu\text{L L}^{-1}$  foi observado a inibição de 100% do crescimento de *F. moniliforme* em teste *in vitro*. Xing et al. (2014) realizaram ensaio de contato com o mesmo óleo, e verificaram inibição de 100% do crescimento do *F. verticillioides* aplicando na concentração de  $60 \mu\text{L L}^{-1}$  em meio de cultura BDA (batata-dextrose-água).

Diante disso, e com necessidades de alternativas para o controle da murcha de *Fusarium*, este trabalho objetivou-se avaliar os efeitos *in vitro* e *in vivo* dos óleos essenciais de *T. vulgaris*, *C. zeylanicum* e seus componentes majoritários sobre *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, visando a avaliação dos mesmos como uma alternativa a ser utilizada em programas de manejo.

### 3 - REFERÊNCIAS

- AGRIOS, G. N. **Plant Pathology**. 5<sup>th</sup>ed. Amsterdam: Elsevier Academic, p.922, 2005.
- ALVARENGA, M. A. R. Origem, botânica e descrição da planta. In: TOMATE. **Produção em campo, casa de vegetação e hidroponia**. 2. ed. Lavras: UFLA, p.455 2013.
- ALVES, D. P & MARTINS, I. V. F. Atualizações no controle parasitário da fasciolíase em bovinos. **Enciclopédia Biosfera**, Goiânia, v.9, n.16, p.323, 2013.
- AMORIM, L.; REZENDE, J. A. M.; BERGAMIN FILHO, A. & CAMARGO, L.E.A. Manual de fitopatologia: Doenças das Plantas Cultivadas. São Paulo: **Agronômica Ceres**, v.2, 5 Ed., 2016
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO COMÉRCIO DE SEMENTES E MUDAS - ABCSEM. **Projeto para o levantamento dos dados socioeconômicos da cadeia produtiva de hortaliças no Brasil**, p.22, 2011.
- BAKKALI, F.; AVERBECK, S.; AVERBECK, D. & IDAOMAR, M. Biological effects of essential oils—a review. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, n. 2, p.446-475, 2008.
- BARBOSA, F.F.; BARBOSA, L.C.A.; MELO, E.C.; BOTELHO, F.M. & SANTOS, R.H.S. Influência da temperatura do ar de secagem sobre o teor e a composição química do. **Química Nova**, v. 29, n. 6, p.1221-1225, 2006.
- BARTON, S.A., Plants: Diseases and Pests In: WRIGLEY, CW, CORKE, H., SEETHARAMAN, K., & FAUBION, J. (2 Ed) **Encyclopedia of Food Grains**. Academic Press, Cambridge, Massachusetts, EUA, p.168–175, 2016.
- BASTOS, C. N. & ALBUQUERQUE, P. S. B. Efeitos do óleo de *Piper aduncum* no controle e pós-colheita de *Colletotrichum musae* em banana. **Fitopatologia Brasileira**, v. 29, p.555-557, 2004.
- BECKMAN, C. H. **The Nature of Wilt Diseases of Plants**. APS press, 1987.
- BEN JABEUR, M. & HAMADA, W. Antifungal activity of chemically different essential oils from wild Tunisian Thymus spp. **Natural Product Research**, v. 29, n. 9, p.869-873, 2015.
- BENCHAAAR, C.; LETTAT, A.; HASSANAT, F.; YANG, W. Z.; FORSTER, R. J.; PETIT, H. V., & CHOUINARD, P. Y. Eugenol for dairy cows fed low or high concentrate diets: Effects on digestion, ruminal fermentation characteristics, rumen

microbial populations and milk fatty acid profile. **Animal feed Science and Technology**, v. 178, n. 3-4, p.139-150, 2012.

BI, S.; WANG, Y.; ZHOU, H. & ZHAO, T. Assembly of AuNRs and eugenol for trace analysis of eugenol using resonance light scattering technique. **Materials Science and Engineering: C**, v. 58, p.1001-1007, 2016.

BUCKLE, J. Clinical aromatherapy: Essential oils in practice. 2. ed. **Elsevier Health Sciences**, 2003.

CAI, G.; GALE, L. R.; SCHNEIDER, R. W.; KISTLER, H. C.; DAVIS, R. M.; ELIAS, K. S. & MIYAO, E. M. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. **Phytopathology**, v. 93, n. 8, p.1014-1022, 2003.

CHAUDHARY, A.; SHARMA, P.; NADDA, G.; TEWARY, D.K.; SINGH, B. Chemical composition and larvicidal activities of the Himalayan cedar, *Cedrus deodara* essential oil and its fractions against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. **Journal of Insect Science**. v.11, p.157, 2011.

CHUA, M. T.; TUNG, Y. T. & CHANG, S. T. Antioxidant activities of ethanolic extracts from the twigs of *Cinnamomum osmophloeum*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 6, p.1918-1925, 2008.

CORRÊA JR, C. I. R. I. N. O.; MING, L. C., & SCHEFFER, M. C. Cultivo de plantas medicinais, condimentares e aromáticas. Jaboticabal: **Funep**.1994.

COSTA, H.; ZAMBOLIM, L. & VENTURA, J. A. Doenças de hortaliças que se constituem em desafio para o controle. In: ZAMBOLIM, L. et al. (Eds.). Manejo integrado de doenças e pragas: hortaliças. Viçosa: **Editora UFV**. p.319–336, 2007.

DE ANDRADE, D. E. G. T.; DE SOUZA, L. T.; DE ASSIS, T. C. Murcha–de–fusário: importante doença do tomateiro no Estado de Pernambuco. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 5, p.243-263, 2013.

DUKE, S. O.; DAYAN, F. E.; RIMANDO, A. M.; SCHIRADER, K. K.; ALIOTTA, G.; OLIVA, A.; ROMAGNI, J. G. Chemical from nature for weed management. **Weed Science**, v. 50, p.138-151, 2002.

ENGELBERTZ, J.; LECHTENBERG, M.; STUDT, L.; HENSEL, A., & VERSPOHL, E.J. Fracionamento guiado por bioase de um extrato de tomilho hidrófilo privado de timol e seu efeito antiespasmódico. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 141, n. 3, p.848-853, 2012.

ENS, E. J.; BERMNER, J. B.; FRENCH, K. & KORTH, J. Identification of volatile compounds released by roots of an invasive plant, bitou bush (*Chrysanthemoides monilifera* spp. *rotundata*), and their inhibition of native seedling growth. **Biological Invasions**, v. 11, n. 2, p. 275-287, 2009.

FAOSTAT. **Statistics, divisão de outubro 17**, 2017. Disponível em <http://faostat3.fao.org>.

FERRAZ, H. G. M., RESENDE, R. S., SILVEIRA, P. R., ANDRADE, C. C. L., MILAGRES, E. A., OLIVEIRA, J. R., & RODRIGUES, F. D. Á. Rhizobacteria induces resistance against Fusarium wilt of tomato by increasing the activity of defense enzymes. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p.274-283, 2014.

FIGUEIREDO, A. C., BARROSO, J. G., PEDRO, L. G., & SCHEFFER, J. J. Factors affecting secondary metabolite production in plants: volatile components and essential oils. **Flavour and Fragrance Journal**, v. 23, n. 4, p.213-226, 2008.

GARCÍA, A. Á. & CARRIL, E. P.-U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (biologia)**, v. 2, n. 3, 2011.

GHORBANPOUR, M., OMIDVARI, M., ABBASZADEH-DAHAJI, P., OMIDVAR, R., & KARIMAN, K. Mechanisms underlying the protective effects of beneficial fungi against plant diseases. **Biological Control**, 2017.

GILL, A. O., & HOLLEY, R. A. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 70, n. 10, p.5750-5755, 2004.

GÓMEZ, O.; CASANOVA, A.; LATERROT, H. & ANAIS, G. **Mejora genética y manejo del cultivo de tomate para la producción en el Caribe**. La Habana: Instituto de Investigaciones Horticolas "Liliana Dimitrova", p.159, 2000.

GULLINO, M. L.; DAUGHTREY, M. L.; GARIBALDI, A., & ELMER, W. H. Fusarium wilts of ornamental crops and their management. **Crop Protection**, v.73, p.50-59, 2015.

GUO, G., J. GAO, X. WANG, Y. GUO, J.C. SNYDER & Y. DU. Establishment of an in vitro method for evaluating whitefly resistance in tomato. **Breed. Sci.** v.63, p.239-245. 2013.

HASHEM, M.; MOHARAM, A. M.; ZAIED, A. A. & SALEH, F. E. M. Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. **Crop Protection**, v.29 (10), p.1111-1117, 2010.

HRCKOVA, G. & VELEBNY, S. Pharmacological potential of selected natural compounds in the control of parasitic diseases. **Springer Science & Business Media**, 2012.

HUAN G, T. C.; HSIEH, C. F.; BOUFFORD, D. E.; KUOH, C. S.; OHASHI, H.; PENG, C.I.; TSAI, J.L.; YANG, K.C.; HSIAO, A.; TSAI, J.M. (EDS.), **FLORA OF TAIWAN** (second ed.), **National Science Council of the Republic of China**, Taipei, p.437-448, 2003.

HUDAIB, M., SPERONI, E., DI PIETRA, AM, & CAVRINI, V. GC/MS evaluation of thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil composition and variations during the vegetative

cycle. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 29, n. 4, p.691-700, 2002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**, jan. 2017. Disponível em [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em: março 2017.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). **Levantamento Sistemático da Produção Agrícola (LSPA)**, abril. 2016. Disponível em: [www.ibge.gov.br](http://www.ibge.gov.br). Acesso em: março 2017.

JARAMILLO, J.; RODRÍGUEZ, V.P.; GUZMÁN, M.; ZAPATA, M.; RENGIFO, T. **Manual Técnico: BuenasPrácticas Agrícolas em laProducción de tomate bajo condiciones protegidas**. Organización de lasNaciones Unidas para la Agricultura y laAlimentación, FAO, p.331, 2007.

JAYAPRAKASHA, G. K.; JAGAN MOHAN RAO, L.& SAKARIAH, K. K. Volatile constituents from Cinnamomum zeylanicum fruit stalks and their antioxidant activities. **Journal of Agricultural and food chemistry**, v. 51, n. 15, p.4344-4348, 2003.

JONES, J.P. Fusarium wilt. In: JONES, J. B.; JONES, J. P.; STALL, R. E. & ZITTER, T. A. (Eds.) Compendium of tomato disease. St. Paul: **APS Press**, p.15, 1991.

KLARIĆ, M. S., KOSALEC, I., MASTELIĆ, J., PIECKOVÁ, E., & PEPELJNAK, S. Antifungal activity of thyme (Thymus vulgaris L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. **Letters in applied microbiology**, v. 44, n. 1, p.36-42, 2007.

KOUL, O., WALIA, S. & DHALIWAL, G.S. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. **Biopest. Int.**4, p.63-84, 2008.

KRÓL, P.; IGIELSKI, R.; POLLMANN, S.& KĘPCZYŃSKA, E. Priming of seeds with methyl jasmonate induced resistance to hemi-biotroph Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici in tomato via 12-oxo-phytodienoic acid, salicylic acid, and flavonol accumulation. **Journal of Plant Physiology**, v. 179, p.122-132, 2015.

KUMRUNGSEE, N., PLUEMPANUPAT, W., KOUL, O., BULLANGPOTI, V. Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, Plutella xylostella, and their impact on detoxification enzyme activities. **Journal of Pest Science**, v. 87, n. 4, p.721-729, 2014.

LARENA, I.; SABUQUILLO, P.; MELGAREJO, P.& DE CAL, A. Biocontrol of Fusarium and Verticillium wilt of tomato by Penicillium oxalicum under greenhouse and field conditions. **Journal of Phytopathology**, v. 151 n. 9, p.507-512, 2003.

LAURENCE, M. H.; SUMMERELL, B. A.; BURGESS, L. W. & LIEW, E. C. Genealogical concordance phylogenetic species recognition in the Fusarium oxysporum species complex. **Fungal Biology**, v. 118, n. 4, p. 374-384, 2014.

LEMOS, D. R. H., MELO, E. C., ROCHA, R. P., BARBOSA, L. C. A., PINHEIRO, A. L. Influence of drying air temperature on the chemical composition of the essential oil of melaleuca. **Engenharia Agricola**, 20, p.5-11, 2012.

LOPES, C. A. & ÁVILA, A. C. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa Hortaliças, p.151, 2005.

LOPES, C. A. & SANTOS, J. R. M. **Doenças do tomateiro**. Brasília: Embrapa – CNPH/SPI, p.67, 1994.

LOPES, C. A.; REIS, A. & BOITEUX, L. S. Doenças fúngicas. In: Lopes, C. A. & Ávila, A. C. (Eds.). Doenças do tomateiro. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, p.19–51, 2005.

MCGOVERN, R. J. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. **Crop Protection**, v. 73, p.78-92, 2015.

MELO, P. C. T. A cadeia agroindustrial do tomate no Brasil: Retrospectiva da década de 90 e cenários para o futuro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, DF, v.19, jul, 2001.

MORAIS, L.A.S. Influência dos fatores abióticos na composição química dos óleos essenciais. **Horticultura Brasileira**, v. 27, n. 2, 2009.

NEITZKE, R.S. & BÜTTOW, M.V. Tomate. In: BARBIERI, R.L.; STUMPF, E.R.T. **Origem e Evolução de Plantas Cultivadas**. Brasília: Embrapa Informações Tecnológicas, p.805-818, 2008.

OLIVEIRA, V. C. & COSTA, J. L. S. Análise de restrição de DNA ribossomal amplificado (ARDRA) pode diferenciar *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* de *F. solani* f. sp. *glycines*. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, DF, v.27, p.631-634, 2002.

OZCAN, M. & CHALCHAT, J.C. Aroma profile of *Thymus vulgaris* L. growing wild in Turkey. **Bulgarian Journal of Plant Physiology**, v. 30, n. 3-4, p.68-73, 2004.

PANDA, H. **Compendium of Herbal Plants**. Asia Pacific Business Press Inc., 2006.

PIMENTEL, F. A., CARDOSO, M. G., GUIMARÃES, L. G. L., QUEIROZ, F., BARBOSA, L. C. A., MORAIS, A. R., NELSON, D. L., ANDRADE, M. A., ZACARONI, L. M., PIMENTEL, S. M. N. P. Extracts from the leaves of *Piper piscatorium* (Trel. Yunc.) obtained by supercritical extraction of with CO<sub>2</sub>, employing ethanol and methanol as co-solvents. **Industrial Crops and Products**, v. 43, p.490-495, 2013.

PINA-VAZ, C., GONÇALVES RODRIGUES, A., PINTO, E., COSTA-DE-OLIVEIRA, S., TAVARES, C., SALGUEIRO, L., E MARTINEZ-DE-OLIVEIRA, J. Actividade antifúngica dos óleos de *Thymus* e seus principais compostos. **Jornal da Academia Europeia de Dermatologia e Venereologia**, v. 18, n. 1, p.73-78, 2004.

RASOOLI, I., & ABYANEH, M. R. Inhibitory effects of Thyme oils on growth and aflatoxin production by *Aspergillus parasiticus*. **Food Control**, v. 15, n. 6, p.479-483, 2004.



REIS, A., COSTA, H., BOITEUX, L. S., & LOPES, C. A. First report *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 on tomato in Brazil. **Fitopatologia Brasileira**, Brasília, v.30, n. 4, p.426–428, 2005.

ROMERO, T. R., & DUARTE, I. D.  $\alpha$ 2-Adrenoceptor agonist xylazine induces peripheral antinociceptive effect by activation of the L-arginine/nitric oxide/cyclic GMP pathway in rat. **European Journal of Pharmacology**, v. 613, n. 1-3, p.64-67, 2009.

SABAA, M. W., & MOHAMED, R. R. Organic thermal stabilizers for rigid poly (vinyl chloride). Part XIII: Eugenol (4-allyl-2-methoxy-phenol). **Polymer Degradation and Stability**, v. 92, n. 4, p.587-595, 2007.

SANTORO, G. F., CARDOSO, M. G., GUIMARÃES, L. G. L, MENDONÇA, L. Z., & SOARES, M. J. Trypanosoma cruzi: atividade de óleos essenciais de *Achillea millefolium* L., *Syzygium aromaticum* L. e *Ocimum basilicum* L. em epimastigotas e tripomastigotas. **Parasitologia Experimental**, v. 116, n. 3, p.283-290, 2007.

SANTOS, T. L. D., BELAN, L. L., ZIED, D. C., DIAS, E. S. E., ALVES, E. Essential oils in the control of dry bubble disease in white button mushroom. **Ciência Rural**, v. 47, n.5, 2017.

SHALABY, H. A. Anthelmintics resistance; how to overcome it?. **Iranian Journal of Parasitology**, v. 8, n. 1, p.18, 2013.

SIENKIEWICZ, M., ŁYSAKOWSKA, M., DENYS, P., & KOWALCZYK, E. The antimicrobial activity of thyme essential oil against multidrug resistant clinical bacterial strains. **Microbial Drug Resistance**, v. 18, n. 2, p.137-148, 2012.

SILVA, C. J., BARBOSA, L. C. A., DEMUNER, A. J., MONTANARI, R. M., FRANCINO, D., MEIRA, R. M. S. A., SOUZA, A. O. Chemical composition and histochemistry of *Sphagneticola trilobata* essential oil. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 22, n. 3, p.482-489, 2012.

SILVA, F., SANTOS, R.H.S., ANDRADE, N.J., BARBOSA, L.C.A., CASALI, V.W.D., LIMA, R.R., PASSARINHO, R.V.M. Basil conservation affected by cropping season, harvest time and storage period. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 40, n. 4, p.323-328, 2005.

SIMÕES, C. M. O. & SPITZER, V. Óleos voláteis. In: Simões, C. M. O. (Org.). Farmacognosia: da planta ao medicamento. Porto Alegre: **Editora da UFRGS**. p.467-495. 2007.

SINGH, G.; MAURYA, S. & CATALAN, C. A. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of *Cinnamomum* leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 9, p.1650-1661, 2007.

SNYDER, W. C. & HANSEN, H. N. Species concept, genetics and pathogenicity in *hypomyces solani*. **Phytopathology**, v. 44, p.338-342, 1953.

SOLIMAN, K. M. & BADEAA, R. I. Effect of oil extracted from some medicinal plants on different mycotoxigenic fungi. **Food and Chemical Toxicology**, v. 40, n. 11, p.1669-1675, 2002.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. **Plant Physiology**. 2. ed. Sunderland:Sinauer Associates, p.792,1998.

TISSERAND, R. & YOUNG, R. Essential Oil Safety-E-Book: A Guide for Health Care Professionals. **Elsevier Health Sciences**, 2013.

VALE, F. X. R., ZAMBOLIM, L., ZAMBOLIM, E. M., & ALVARENGA, M. A. R. Manejo integrado das doenças do tomateiro: epidemiologia e controle. In: Alvarenga, M. A. R. (Ed.). Tomate: produção em campo, em casa de vegetação e em hidroponia. Lavras: **Editora UFLA**, p.249–253, 2004.

VALERO, M.A.; VIDAL, A.; BURGOS, R.; CALVO, F.L.; MARTINEZ, C.; LUENGO, L.M.; CUERDA, C. Meta Analysis on the role of lycopene in type 2 diabetes mellitus. **Nutricion Hospitalaria**, v.26, n.6, p.1236-1241, 2011.

VILAPLANA, R., PAZMIÑO, L., & VALENCIA-CHAMORRO, S. Control of anthracnose, caused by *Colletotrichum musae*, on postharvest organic banana by thyme oil. **Postharvest Biology and Technology**, v. 138, p.56-63, 2018.

XING, F., HUA, H., SELVARAJ, J. N., ZHAO, Y., ZHOU, L., LIU, X., & LIU, Y. Growth inhibition and morphological alterations of *Fusarium verticillioides* by Cinnamomun oil and cinnamaldehyde. **Food Control**, v. 46, p. 343-350, 2014.

WANG, S.; CHEN, P. F. & CHANG, S. T. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous Cinnamomun (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 7, p.813-818, 2005.

WORANUCH, S., & YOKSAN, R. Eugenol-loaded chitosan nanoparticles: II. Application in bio-based plastics for active packaging. **Carbohydrate Polymers**, v. 96, n. 2, p.586-592, 2013.

ZARZUELO, A. & CRESPO, E. **Medicinal and Aromatic Plants–Industrial Profiles**, Thyme Stahl-Biskup E and Saez F, ed. 2002.

## **CAPÍTULO 1**

**EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Thymus vulgaris* E *Cinnamomun zeylanicum* E SEUS COMPONENTES MAJORITÁRIOS SOBRE FUNGO *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici***

**EFEITO DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Thymus vulgaris* E *Cinnamomum zeylanicum* E SEUS COMPONENTES MAJORITÁRIOS SOBRE O FUNGO *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici***

Wilker Pinheiro Lima<sup>a</sup>, Débora Cristina Gonçalves<sup>a</sup>, Leônidas Leoni Belan<sup>b</sup>, José Romário de Carvalho<sup>b</sup>, Willian Bucker Moraes<sup>b</sup>, Vagner Tebaldi de Queiros <sup>a</sup>Adilson Vidal Costa<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Agroquímica,

<sup>b</sup>Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias, Alegre, ES, Brasil

**RESUMO:**

O tomate é a hortaliça de maior consumo no mundo, sendo uma cultura de importância econômica e social. Porém, em seu cultivo, é propício a incidência de diversas doenças, dentre elas pode-se destacar a murcha de *Fusarium*, causada pelo *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Sendo assim, objetivou-se com este estudo avaliar a atividade *in vitro* dos óleos essenciais (OEs) de *Thymus vulgaris* e *Cinnamomum zeylanicum* e seus componentes majoritários. A caracterização química dos OEs foi realizada por CG/DIC e CG/EM, tendo identificado o eugenol (77,95%) como componente majoritário do OE canela, o carvacrol (23,93%) e o timol (20,23%) do OE de tomilho. No ensaio foram calculados os valores de CE<sub>50</sub> e CE<sub>100</sub> do crescimento micelial de cada tratamento, sendo: OE de canela (171,79 e 575,18 ppm); OE de tomilho (106,29 e 341,73 ppm); eugenol (187,46 e 374,93 ppm); timol (88,67 e 193,02 ppm) e carvacrol (52,06 e 170,92 ppm). E, para esporulação, foram calculados os valores de: OE de canela (262,20 e 342,72 ppm); OE de tomilho (67,47 e 255,42 ppm); eugenol (80,94 e 359,55 ppm); timol (97,0 e 194,02 ppm) e carvacrol (44,66 e 113,82 ppm). Com isso, os óleos essenciais e seus componentes majoritários podem ser uma alternativa para o controle do *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Palavras-chave: Controle alternativo, Murcha de *Fusarium*, Tomate.

**ABSTRACT:**

The tomato is the most consumed vegetable in the world, and its cultivation has a great economical and social importance. However, in its cultivation, the incidence of several diseases is favorable, among them the *fusarium wilt*, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Therefore, the purpose of this study is to evaluate the *in*

*vitro* activity of the essential oils (EOs) of *Thymus vulgaris* and *Cinnamomum zeylanicum* and their major components. The chemical characterization of (EOs) was performed by CG/DIC and CG/EM, it was identified eugenol (77,95%) as the major component of the cinnamon EO, the carvacrol (23,93%) and the thymol (20,23%) as the major component of the thyme EO. In the assay, they were calculated the values of EC50 and EC100 of the mycelial growth of each treatment, being cinnamon EO (171,79 and 575,18ppm); thyme EO (106,29 and 341,73ppm); eugenol (187,46 and 374,93ppm); thymol (88,67 and 193,02ppm) and carvacrol (52,06 and 170,92ppm). And for sporulation, the calculated values were of cinnamon EO (262,20 and 342,72ppm); thyme EO (67,47 and 255,42ppm); eugenol (80,94 and 359,55ppm); thymol (97,0 and 194,02ppm) and carvacrol (44,66 and 113,82ppm). Therefore, the EOs and their major components may be an alternative for the *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* control.

Keywords: Alternate control. Fusarium wilt. Tomato.

## 1. Introdução

A cultura do tomateiro (*Solanum lycopersicum*) é importante econômica e socialmente, por ser a hortaliça mais consumida no mundo. (GUO et al., 2013). Os três principais produtores mundiais são a China, a Índia e os Estados Unidos (FAOSTAT, 2017).

Porém, essa cultura é influenciada por alguns fatores, podendo reduzir produtividade, como as doenças (GUO et al., 2013). O tomateiro pode ser infectado por cerca de 28 doenças de importância econômica, entre essas doenças encontra-se a murcha de Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*), a qual tem a capacidade de diminuir a produtividade da cultura (GULLIANO et al., 2015) sendo descrito perdas de 45% da produção na Índia e observados 100% de incidências da murcha de Fusarium nos Estados Unidos (MCGOVERN, 2015).

Para essa doença, o controle mais eficiente é a utilização de variedades resistentes a esse patógeno (FERRAZ et al., 2014). No entanto, essas cultivares não são propícias para todas as regiões nas quais são cultivadas o tomateiro, e com o surgimento de novas raças fisiológicas de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* tem sido um

fator preocupante em áreas onde se cultiva (LOPES et al., 2005). Diante disso, uma alternativa para o manejo dessa doença é necessário.

A utilização de óleos essenciais (OE) de plantas para controle de fungos está sendo relatada como uma alternativa de manejo de doenças. O óleo essencial de tomilho (*Thymus vulgaris*) apresentou atividade antifúngica contra espécie de *Fusarium oxysporum* (BEN JABEUR & HAMADA, 2015), juntamente com óleo essencial de canela (*Cinnamomun zeylanicum*) para o gênero *Fusarium* sp. (SINGH, et al., 2007).

Considerando o uso de métodos naturais no controle de fitopatógenos, com este estudo foi avaliado o efeito *in vitro* dos óleos essenciais de canela (*C. zeylanicum*) e tomilho (*T. vulgaris*) e os componentes majoritários eugenol, carvacrol e timol sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

## **2. Material e Métodos**

### **2.1. Material**

Os óleos essenciais de tomilho e de canela foram adquiridos das empresas Quinarí e Destilaria Bauru Ltda, respectivamente. A empresa Sigma-Aldrich forneceu os reagentes timol, eugenol, Tween® 80 (polisorbato 80) e DMSO (dimetilsulfóxido). O fungicida comercial bunema 330 cs (ingrediente ativo o metan-sódico 287,59 kg/há (143,795 ppm) foi adquirido da empresa Taminco, o meio de cultura batata-dextrose-água (BDA) da empresa Hexis. O fungo *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, raça 3, foi obtido do banco de fungos do Laboratório de Epidemiologia e Manejo de Doenças de Plantas Agrícolas e Florestais (LEMP).

### **2.2. Caracterização química**

A identificação dos componentes voláteis dos óleos essenciais de canela e de tomilho foi conduzida por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas modelo QP-PLUS-2010 (SHIMADZU®). A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar de sílica fundida com a fase estacionária Rtx-5MS, com 30 m de comprimento e 0,025 mm de diâmetro interno, utilizando hélio como gás de arraste. A temperatura do injetor foi de 220°C e do detector 300°C. A temperatura inicial da coluna foi de 60°C, sendo programada para ter acréscimos de 3°C a cada minuto até atingir a temperatura máxima de 240°C (COSTA et al., 2015). A identificação dos componentes das amostras analisadas foi realizada pela comparação de seus espectros de massas com os dados de referência a partir da base de dados do equipamento NIST/EPA/NIH 08 Mass Spectral Library e pelos índices de Kovats (ADAMS, 2007).

Para a quantificação dos componentes, os óleos essenciais foram analisados em cromatógrafo a gás equipado com detector por ionização de chama. A coluna cromatográfica utilizada foi do tipo capilar com fase estacionária Rtx-5MS, de 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno, utilizando nitrogênio como carreador do gás e o programa de temperatura foi o mesmo reportado previamente pela análise em CG-MS. As temperaturas do injetor e do detector foram de 240°C e 250°C, respectivamente (COSTA et al., 2015).

### 2.3. Ensaio biológico

Inicialmente foram preparadas as soluções aquosas a 10000 ppm, contendo os solventes DMSO (2% v.v<sup>-1</sup>), Tween 80® (0,01% v.v<sup>-1</sup>) e os tratamentos a serem avaliados (OE de tomilho; OE de canela; timol; eugenol; carvacrol). Essas soluções foram utilizadas para o preparo de todas as diluições. Foi realizado um pré-teste para determinar atividade antifúngica máxima no crescimento micelial e na germinação do *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* dos tratamentos nas concentrações de 200; 400; 600; 800; 1000 ppm.

O teste *in vitro* foi dividido em 5 experimentos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições, sendo cada repetição composta por uma placa.

Assim, o experimento 1 foi composto pelo OE de canela nas concentrações de 50; 90; 180; 340; 450; e 600 ppm; o experimento 2 com o OE de tomilho nas concentrações de 50; 85; 140; 240 e 400 ppm; o experimento 3 com o carvacrol nas concentrações de 50; 70; 100; 140 e 200 ppm; o experimento 4 com o eugenol nas concentrações de 50; 85; 140; 240 e 400 ppm; o experimento 5 com o timol nas concentrações de 50; 70; 100; 140 e 200 ppm. E dois testes adicionais, sendo o fungicida comercial (750L/ha) e a testemunha (BDA+solvente) para cada experimento.

Os tratamentos foram adicionados ao meio BDA fundente e vertido em placa (20 mL) (SHARMA et al., 2008) com as concentrações de cada tratamento. Em seguida as placas foram submetidas ao teste de difusão em disco (NCCLS, 2003), e um disco de micélio do patógeno foi depositado no centro de cada placa. Em seguida, foram mantidas em câmara de crescimento de demanda bioquímica de oxigênio (BOD) ( $25 \pm 1^\circ\text{C}$  e fotoperíodo de 12 horas) durante sete dias.

Para avaliar o crescimento micelial (CM), cada placa foi dividida em quatro quadrantes em forma de X e, com o auxílio de uma régua graduada em centímetros, realizou-se a medição do CM em cada quadrante sendo descontado o disco presente na placa. Assim, esse processo foi avaliado no sétimo dia.

Já a contagem de esporos foi realizada no sétimo dia, onde foi preparada uma suspensão de esporos para cada tratamento através da adição de 10 mL de água destilada às placas de Petri. Com o auxílio de uma alça de Drigalsky, foi realizada uma leve fricção da colônia fúngica, de modo a liberar as estruturas reprodutivas do fungo do meio de cultura. A suspensão homogeneizada foi colocada em um hemacitômetro (câmara de Neubauer) e, dessa forma, foi quantificado o número de esporos com o auxílio de um microscópio ótico (CRUZ et al., 2014)

A contagem dos esporos é dada por:  $C_i = (N^\circ c') \times (4,0 \times 10^6)$ . Onde,  $C_i$  = Concentração do inóculo;  $N^\circ c'$  =  $N^\circ$  médio de esporos nos compartimentos  $c'$ ; 400 =  $N^\circ$  de subdivisões no compartimento  $c'$ .

Para o cálculo da  $CE_{50}$  e  $CE_{100}$  utilizou-se os valores de PIC (Porcentagem de Inibição do Crescimento micelial) e PIE (Porcentagem de inibição do número de esporos) (BAMPI et al., 2013; VIANA, 2013) obtidos pela seguinte fórmula: PIC:  $((CM \text{ Testemunha} - CM \text{ Tratamento}) \times 100) / CM \text{ Testemunha}$ . Sendo: CM: valor do crescimento micelial da testemunha (BDA + solvente) e de cada tratamento



respectivamente. E PIE:  $((NE \text{ Testemunha} - NE \text{ Tratamento}) \times 100) / CM \text{ Testemunha}$ . Sendo: NE: valor do número de esporos da testemunha (BDA + solvente) e de cada tratamento, respectivamente (EDGINGTON; KHEW; BARRON, 1971).

## 2.4. Análise estatística

Para o teste *in vitro*, os dados de crescimento micelial (PIC) e número de esporos (PIE) foram submetidos à análise de variância. Em caso do teste F significativo ao nível de 5% de probabilidade, o fator quantitativo (concentrações) foi avaliado por regressão. Posteriormente foi realizado um teste de intervalo de confiança pelo teste de tukey ( $p < 0,05$ ).

## 3. Resultados e Discussão

### 3.1 Análise da composição química dos óleos essenciais

Na composição química do OE de canela, as análises CG-DIC e CG-EM revelaram 18 componentes diferentes, que representaram 99,73% da quantidade total do óleo analisado, os compostos identificados estão listados na Tabela 1, e o eugenol foi o componente em maior quantidade com 77%. A composição química do OE de tomilho, revelou 22 componentes diferentes, que representaram 99,79% do total, com timol (20,23%), carvacrol (23,93%) e *p*-cimene (22,93%) como componentes majoritários do OE.

TABELA 1 – Constituintes químicos dos óleos essenciais de *Cinnamomun zeylanicum* e *Thymus vulgaris*, em porcentagem, e seus respectivos índices de Kovats calculado (IK<sub>calc.</sub>) e tabelado (IK<sub>tab.</sub>).

Constituintes	Óleos essenciais (%)		Índice de Kovats	
	<i>Cinnamomun zeylanicum</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	IK <sub>calc.</sub>	IK <sub>tab.</sub>
Acetato de bornila	–	1,73	1283	1285
Acetato de cinamila	1,94	–	1442	1440
Acetileugenol	3,59	–	1525	1524
1,8-cineol	–	2,07	1028	1035
α-copaeno	0,58	–	1371	1376
α-felandreno	0,79	1,37	999	1005
α-humuleno	0,53	–	1448	1454
α-pineno	0,74	4,53	940	939
α-terpineol	0,26	0,77	1186	1189
α-terpinoleno	–	1,15	1085	1088
β-felandreno	0,58	–	1026	1031
β-mirceno	–	1,81	990	991
β-pineno	0,21	0,60	977	980
Benzoato de benzila	3,48	–	1760	1762
Borneol	–	2,88	1163	1165
Canfeno	0,23	3,16	953	953
Cânfora	–	0,61	1141	1143
Carvacrol	–	<b>23,93</b>	1300	1298
Cinamaldeído	1,05	–	1267	1266
δ-2-careno	–	0,36	1005	1001
δ-3-careno	–	0,42	1012	1011
Eugenol	<b>77,95</b>	–	1361	1356
γ-terpineno	–	0,71	1058	1062
Isoborneol	–	1,58	1153	1156
Limoneno	–	3,01	1026	1031
Linalol	2,30	4,68	1097	1098
Longifoleno	–	0,33	1397	1402
p-cimeno	0,74	<b>22,57</b>	1022	1022
Óxido de cariofileno	0,58	–	1577	1581
Safrol	1,02	–	1283	1285
Timol	–	20,23	1291	1290
Trans-cariofileno	3,16	–	1413	1418
Terpin-4-ol	–	1,28	1173	1177
<b>Total Identificado</b>	<b>99,73</b>	<b>99,79</b>		

### 3.2 Ensaio biológico

No ensaio biológico foi observado inibição de 100% do crescimento micelial e da esporulação de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* em meio BDA, confirmando potencial antifúngico dos tratamentos (OEs e componentes majoritários). Com equação de regressão, foi possível calcular a concentração mínima efetiva (CE) para inibir 50% e 100% do crescimento do micelial e da esporulação do *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* em BDA (TABELA 2).

TABELA 2 – Modelos de equação de regressão obtidos a partir da avaliação dos óleos essenciais de *Cinnamomun zeylanicum* (canela) e *Thymus vulgaris* (tomilho) e seus componentes majoritários carvacrol, eugenol e timol contra o crescimento micelial e números de esporos de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* em meio de batata-dextrose-ágar (BDA)

Tratamentos	Equação de Regressão		CE <sub>50</sub> (ppm)		CE <sub>100</sub> (ppm)	
	PIC	PIE	PIC	PIE	PIC	PIE
OE canela	$\hat{Y} = -0,000173x^2 + 0,253177x + 11,61145$ $R^2 = 0,93$	$\hat{Y} = -0,000384x^2 + 0,333737x + 30,725314$ $R^2 = 0,67$	171,79	62,20	575,18	342,72
OE tomilho	$\hat{Y} = -0,000756x^2 + 0,550977x$ $R^2 = 0,98$	$\hat{Y} = -0,000786x^2 + 0,492069x + 20,378348$ $R^2 = 0,65$	106,29	67,47	341,73	255,42
Carvacrol	$\hat{Y} = -0,003158x^2 + 1,124835x$ $R^2 = 0,99$	$\hat{Y} = -0,004706x^2 + 1,468698x - 6,201286$ $R^2 = 0,82$	52,06	44,66	170,92	113,82
Eugenol	$\hat{Y} = 0,266716x$ $R^2 = 0,91$	$\hat{Y} = -0,0011x^2 + 0,664x + 3,463$ $R^2 = 0,7852$	187,46	80,94	374,93	359,55
Timol	$\hat{Y} = 0,479164x + 7,511321$ $R^2 = 0,91$	$\hat{Y} = 0,515418x$ $R^2 = 0,99$	88,67	97,0	193,02	194,02

CE<sub>50</sub> - Concentração efetiva capaz de inibir 50%; CE<sub>100</sub> - Concentração efetiva capaz de inibir 100%; ppm – parte por milhão; PIC – porcentagem de inibição do crescimento micelial; PIE – porcentagem de inibição do número de esporos;

O carvacrol obteve a menor concentração da CE<sub>100</sub>, com 170,92 ppm para o crescimento micelial e 113,82 ppm para esporulação, ou seja, precisou de menor concentração para inibir o *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, com isso, foi considerado o mais eficiente entre os tratamentos avaliados. Entre os dois óleos testados, o OE de tomilho foi mais eficiente que o OE de canela, isso pode estar relacionado com componentes majoritários de cada óleo, já que o carvacrol e timol (tomilho) foram mais eficientes que o eugenol (canela) (TABELA 2).

Já para atividade antifúngica do OE de tomilho, foram necessários 341, 73 ppm para inibir 100% o crescimento micelial do *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* em BDA. Manganyi et al (2015) também confirmaram a atividade antifúngica do óleo de tomilho sobre o gênero *Fusarium*, inibindo 100% a ação do patógeno na concentração de 500 ppm. Já La Torre et al (2015) relataram 86,6% de inibição do crescimento micelial do *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* na concentração de 300 ppm com OE de *Syzygium aromaticum* (cravo-da-índia).

O OE de canela teve sua atividade antifúngica confirmada para *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, com 575,18 ppm para inibir 100%. Esse OE já foi testado para outro fungo do gênero *Fusarium* sp. descritos por Velluti et al. (2003), no qual relataram 100% de inibição do crescimento do *F. proliferatum* em grão de milho na concentração de 500 ppm. Com isso, podemos concluir o potencial antifúngico do OE de canela no gênero *Fusarium* sp.

Na tabela 2 observa-se que os valores de CE<sub>50</sub> e CE<sub>100</sub> do PIE (porcentagem de inibição do número de esporos) foram menores que os do PIC (porcentagem de inibição do crescimento micelial) na maioria dos tratamentos, o que nos leva a concluir que os tratamentos foram mais eficientes na sobrevivência do fungo (número de esporos) que em seu crescimento micelial. Assim, a utilização desses compostos químicos, de origem natural, pode promover a redução do inoculo inicial (número de esporos), ou seja, redução do patógeno na área, que podem sobreviver durante anos sem a presença do hospedeiro no solo.

O mecanismo de ação antifúngico dos óleos essenciais canela e tomilho pode ser relacionado à capacidade do OE penetrar e perturbar a parede celular fúngica e as membranas citoplasmáticas via processo de permeabilização, o que leva à desintegração das membranas mitocondriais. Isso é causado por alterações no fluxo de elétrons dentro da via do sistema de transporte de elétrons (SWAMY et al., 2016).

Já os componentes majoritários carvacrol e timol têm o mecanismo de ação antifúngica pela capacidade de favorecer a troca de íons no meio celular dos fungos, como a entrada de  $H^+$  e  $K^+$ , elevar a permeabilidade da membrana e desfavorece a sobrevivência da célula por dificultar os processos essenciais como o transporte de elétrons, o fluxo de  $Ca^{2+}$  nas paredes celulares relatadas frente ao fungo *Saccharomyces cerevisiae* (RAO et al., 2010) e *Candida albicans* (AHMAD et al., 2011), e também a interferência na formação de biofilme fúngicos frente às estirpes de *Candida albicans* (BRAGA, et al., 2008). Chavan & Tupe (2014) relataram também a atividade antifúngica desses componentes através da alteração da membrana citoplasmática, como resultado da inibição da biossíntese do ergosterol.

Assim, os óleos essenciais representam uma alternativa para o controle de doenças de plantas, como a murcha de *Fusarium*. Hashem et al. (2010) concluíram a eficácia dos OEs de *Cuminum cyminum* L. (cominho), *Ocimum basilicum* var *basilicum* L. (manjerição doce) e *Pelargonium graveolens* L. Her (gerânio rosa) na concentração de 40.000 ppm no controle de seis espécies do gênero *Fusarium* ssp. (*F. oxysporum*, *F. solani*, *F. moniliforme*, *F. dimerum*, *F. equiseti* e *F. lateritium*) em teste *in vitro*, casa de vegetação e a campo, corroborando para eficiência dos OEs deste trabalho, o qual, utilizou concentrações menores (40 vezes menor).

Portanto, os OEs de canela e tomilho, juntamente com seus componentes majoritários, carvacrol, eugenol e timol apresentaram atividade antifúngica sobre *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* e o carvacrol foi o tratamento mais eficiente.

#### 4. Referências

ADAMS, R. P. Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry. 5 online ed. **Texensis Publishing**, 2017.

AGROFIT - MAPA – **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento: Sistema de Agrotóxico Fitossanitário, 2016.** Disponível em: <agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\_cons/principal\_agrofit\_cons>; Acesso em: 04/04/2017.

AHMAD, A., KHAN, A., AKHTAR, F., YOUSUF, S., XESS, I., KHAN, L. A., & MANZOOR, N. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. **European journal of clinical**

**microbiology & infectious diseases**, v. 30, n. 1, p. 41-50, 2011.

BAMPI, D.; CASA, R. T.; WORDELL FILHO, J. A.; BLUM, M. M. C; CAMARGO, M. P. Sensibilidade de *Stenocarpella macrospora* a fungicidas. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 787-795, 2013.

BEN JABEUR, M.; HAMADA, W. Antifungal activity of chemically different essential oils from wild Tunisian *Thymus* spp. **Natural Product Research**, v. 29, n. 9, p. 869-873, 2015.

BRAGA, P. C., CULICI, M., ALFIERI, M., & DAL SASSO, M. Thymol inhibits *Candida albicans* biofilm formation and mature biofilm. **International journal of antimicrobial agents**, v. 31, n. 5, p. 472-477, 2008.

CHAVAN, P. S., & TUPE, S. G. Santosh G. Antifungal activity and mechanism of action of carvacrol and thymol against vineyard and wine spoilage yeasts. **Food Control**, v. 46, p. 115-120, 2014.

CHENG, S. S., LIU, J. Y., HSUI, Y. R., & CHANG, S. T. Chemical polymorphism and antifungal activity of essential oils from leaves of different provenances of indigenous *Cinnamomum* (*Cinnamomum osmophloeum*). **Bioresource Technology**, v. 97, n. 2, p. 306-312, 2006.

Costa, A. V., Pinheiro, P. F., de Queiroz, V. T., Rondelli, V. M., Marins, A. K., Valbon, W. R., & Pratissoli, D. Chemical composition of essential oil from *Eucalyptus citriodora* leaves and insecticidal activity against *Myzus persicae* and *Frankliniella schultzei*. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 18, n. 2, p. 374-381, 2015.

CRUZ, T. P., ALVES, F. R., MENDONÇA, R. F., COSTA, A. V., DE JESUS JUNIOR, W. C., PINHEIRO, P. F., & MARINS, A. K. Atividade fungicida do óleo essencial de *Cymbopogon winterianus* jowit (Citronela) contra *Fusarium solani*. **Bioscience Journal**, v. 31, n. 1.

EDGINGTON, L. V.; KHEW, K. L.; BARRON, G. L. Fungitoxic spectrum of benzimidazoles compounds. **Phytopathology**, Saint Paul, v. 61, p. 42-44, 1971.

FAOSTAT. **Statistics, divisão de outubro 17**, 2017. Disponível em

<http://faostat3.fao.org>.

FERRAZ, H. G. M., RESENDE, R. S., SILVEIRA, P. R., ANDRADE, C. C. L., MILAGRES, E. A., OLIVEIRA, J. R., & RODRIGUES, F. D. Á. Rhizobacteria induces resistance against *Fusarium* wilt of tomato by increasing the activity of defense enzymes. **Bragantia**, v. 73, n. 3, p. 274-283, 2014.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.

GULLINO, M. L., DAUGHTREY, M. L., GARIBALDI, A., & ELMER, W. H. *Fusarium* wilts of ornamental crops and their management. **Crop Protection**, 73, 50-59. 2015.

GUO, G., J. GAO, X. WANG, Y. GUO, J.C. SNYDER & Y. DU. Establishment of an in vitro method for evaluating whitefly resistance in tomato. **Breeding Science**. 63: 239-245.2013.

HASHEM, M., MOHARAM, A. M., ZAIED, A. A. & SALEH, F. E. M., Efficacy of essential oils in the control of cumin root rot disease caused by *Fusarium* spp. **Crop Protection**, v. 29, n. 10, p. 1111-1117, 2010.

LA TORRE, A., CARADONIA, F., MATERE, A., & BATTAGLIA, V. Using plant essential oils to control *Fusarium* wilt in tomato plants. **European Journal of Plant Pathology**, v. 144, n. 3, p. 487-496, 2016.

LOPES, C. A.; REIS, A. & BOITEUX, L. S. Doenças fúngicas. In: Lopes, C. A. & Ávila, A. C. (Eds.). Doenças do tomateiro. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, p. 19–51, 2005.

MANGANYI, M. C.; REGNIER, T.; OLIVIER, E. I. Antimicrobial activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* isolates and their biofilms. **South African Journal of Botany**, v. 99, p. 115-121, 2015.

MCGOVERN, R. J. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. **Crop Protection**, v. 73, p. 78-92, 2015.

NCCLS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard— Eighth Edition. **NCCLS** document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-



6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

RAO, A., ZHANG, Y., MUEND, S., & RAO, R. Mechanism of antifungal activity of terpenoid phenols resembles calcium stress and inhibition of the TOR pathway. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 54, n. 12, p. 5062-5069, 2010.

SHARMA, A., RAJENDRAN, S., SRIVASTAVA, A., SHARMA, S., & KUNDU, B. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 2017.

SINGH, G., MAURYA, S., & CATALAN, C. A. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of *Cinnamomun* leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 9, p. 1650-1661, 2007.

SWAMY, M. K., AKHTAR, M. S., & SINNIAH, U. R. Intimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2016, 2016.

VELLUTI, A., SANCHIS, V., RAMOS, A. J., EGIDO, J., & MARÍ, S. Inhibitory effect of Cinnamomun, clove, lemongrass, oregano and palmarose essential oils on growth and fumonisin B 1 production by *Fusarium proliferatum* in maize grain. **International Journal of Food Microbiology**, v. 89, n. 2, p. 145-154, 2003.

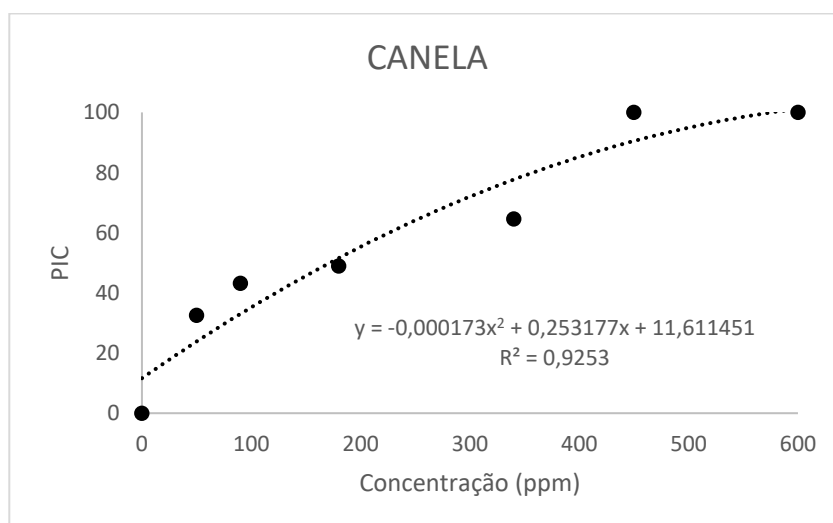
VIANA, W. P. **Antifungal activity of the essential oil of *Origanum vulgare* (oregano) on opportunistic fungi of the genus *Fusarium***. Dissertação (Mestrado em Farmacologia) - Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2013.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A - Análise de dados canela PIC e PIE

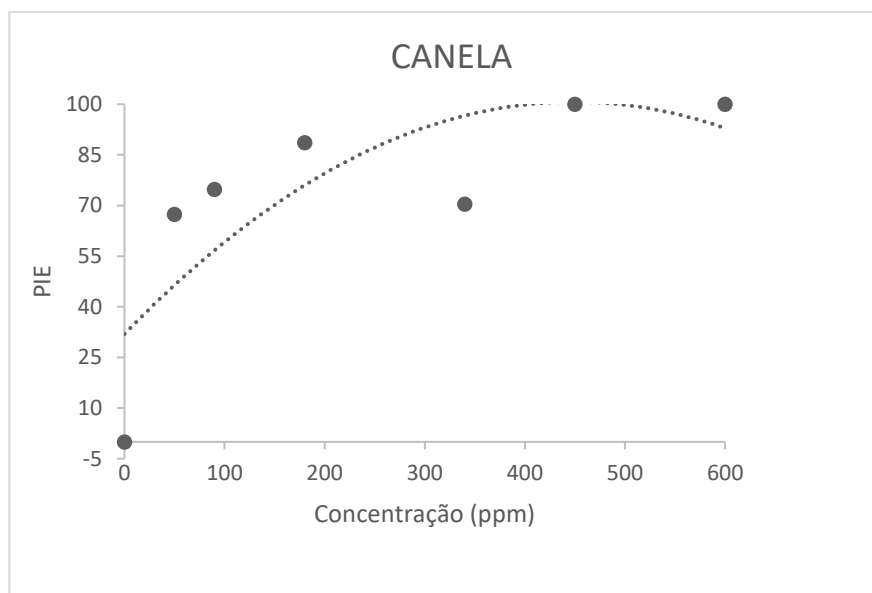
Análise de dados canela PIC

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	6	39206.971429	6534.495238	75.568	0.0000
erro	28	2421.200000	86.471429		
Total corrigido	34	41628.171429			
CV (%) =	16.72				
Média geral:	55.6285714	Número de observações:	35		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 4,15863988754565					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	18.445056	2.42333081	7.611	0.0000	
b1	0.152213	0.00755030	20.160	0.0000	
R² = 89.64%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	11.611451	3.07033029	3.782	0.0008	
b1	0.253177	0.02885987	8.773	0.0000	
b2	-0.000173	0.00004775	-3.625	0.0011	
R² = 92.53%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	35143.858677	35143.858677	406.422	0.000
b2	1	1136.073694	1136.073694	13.138	0.001
Desvio	4	2927.039058	86.471429	8.462	0.000
Erro	28	2421.200000			
*Ao nível de 5% de significância					



## Análise de dados canela PIE

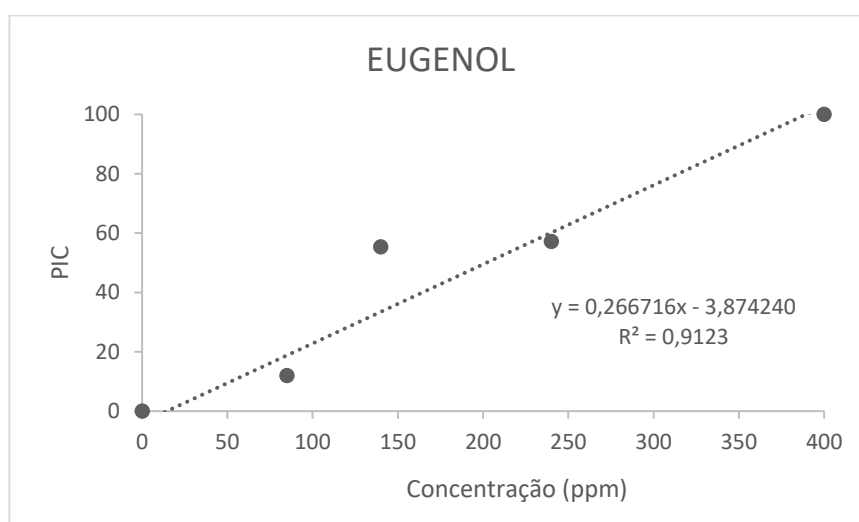
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	6	35446.342857	5907.723810	13.217	0.0000
erro	28	12515.200000	446.971429		
Total corrigido	34	47961.542857			
CV (%) =	29.09				
Média geral:	72.6857143	Número de observações:	35		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 9,45485513978325					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	45.889518	5.50955178	8.329	0.0000	
b1	0.109692	0.01716594	6.390	0.0000	
R² = 51.49%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	30.725314	6.98053423	4.402	0.0001	
b1	0.333737	0.06561422	5.086	0.0000	
b2	-0.000384	0.00010857	-3.538	0.0014	
R² = 92.53%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	18251.343865	18251.343865	40.833	0.000
b2	1	5594.304222	5594.304222	12.516	0.001
Desvio	4	11600.694770	2900.173693	6.488	0.001
Erro	28	12515.200000	446.971429		
*Ao nível de 5% de significância					



## APÊNDICE B - Análise de dados eugenol PIC e PIE

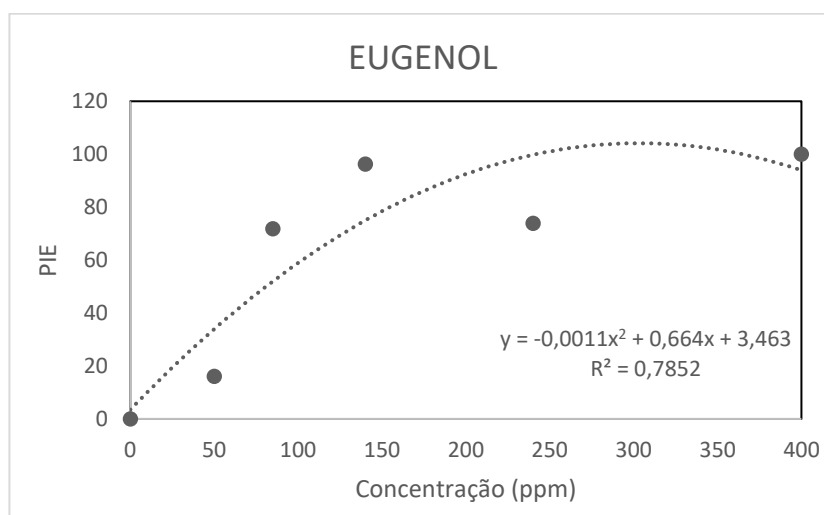
### Análise de dados eugenol PIC

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	41870.000000	8374.000000	71.349	0.0000
erro	24	2816.800000	117.366667		
Total corrigido	29	44686.800000			
CV (%) =	29.44				
Média geral:	36.8000000	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 4,84492862004523					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	-3.874240	2.99928284	-1.292	0.2088	
b1	0.266716	0.01478463	18.040	0.0000	
R² = 89.64%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	-7.762283	3.99979855	-1.941	0.0641	
b1	0.342573	0.05370427	6.379	0.0000	
b2	-0.000187	0.00012701	-1.469	0.1547	
R² = 91.83%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	38196.445769	38196.445769	325.445	0.000
b2	1	253.362153	253.362153	2.159	0.155
Desvio	3	3420.192078	1140.064026	9.714	0.000
Erro	24	2816.800000	117.366667		
*Ao nível de 5% de significância					



## Análise de dados eugenol PIE

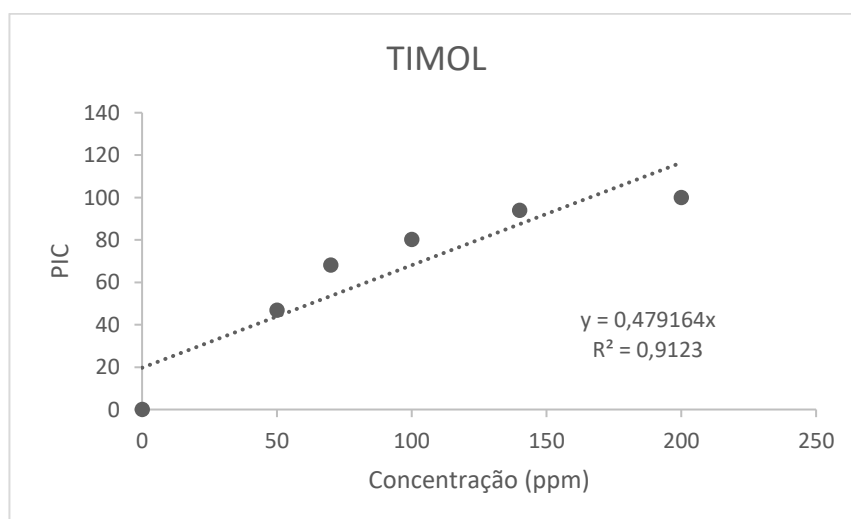
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	63151.041667	12630.208333	35.145	0.0000
erro	24	8625.000000	359.375000		
Total corrigido	29	71776.041667			
CV (%) =	42.52				
Média geral:	59.6707830	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 9,2774505742474					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	-3.874240	2.99928284	-1.292	0.2088	
b1	0.266716	0.01478463	18.040	0.0000	
R² = 89.64%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	-7.762283	3.99979855	-1.941	0.0641	
b1	0.342573	0.05370427	6.379	0.0000	
b2	-0.000187	0.00012701	-1.469	0.1547	
R² = 91.83%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	38196.445769	38196.445769	325.445	0.000
b2	1	253.362153	253.362153	2.159	0.155
Desvio	3	3420.192078	1140.064026	9.714	0.000
Erro	24	2816.800000	117.366667		
*Ao nível de 5% de significância					



## APÊNDICE C - Análise de dados timol PIC e PIE

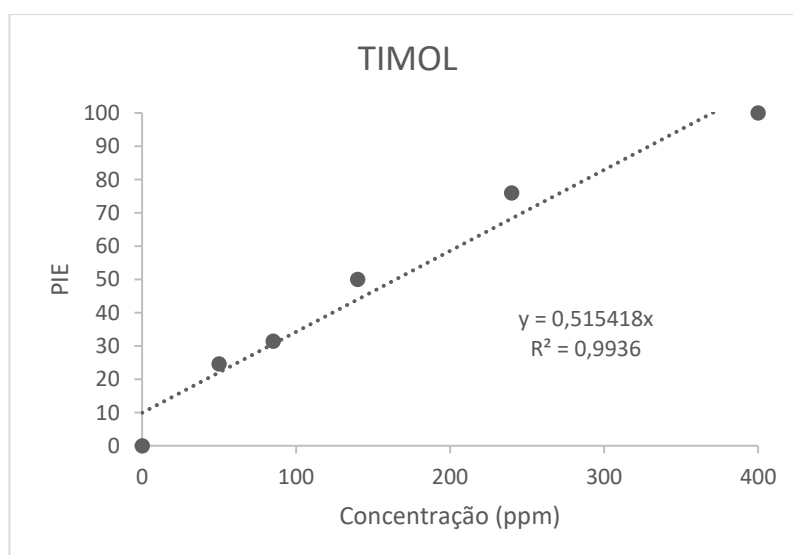
### Análise de dados timol PIC

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	31122.566667	6224.513333	30.860	0.0000
erro	24	4840.800000	201.700000		
Total corrigido	29	35963.366667			
CV (%) =	27.19				
Média geral:	52.2333333	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 6,35137780328017					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	7.511321	4.57505542	1.642	0.1137	
b1	0.479164	0.04038561	11.865	0.0000	
R² = 91.23%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	4.227945	5.94481554	0.711	0.4838	
b1	0.587990	0.13213880	4.450	0.0000	
b2	-0.000536	0.00061923	-0.865	0.3956	
R² = 91.72%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	28393.686343	28393.686343	140.772	0.000
b2	1	150.901035	150.901035	0.748	0.396
Desvio	3	2577.979288	859.326429	4.260	0.015
Erro	24	4840.800000	201.700000		
*Ao nível de 5% de significância					



## Análise de dados timol PIE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	33065.600000	6613.120000	10.652	0.0000
erro	24	14900.400000	620.850000		
Total corrigido	29	47966.000000			
CV (%) =	53.01				
Média geral:	47.0000000	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 11,1431593365616					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	-1.105660	8.02669485	-0.138	0.8916	
b1	0.515418	0.07085443	7.274	0.0000	
R² = 99.36%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	-1.349590	10.42986716	-0.129	0.8981	
b1	0.523503	0.23183059	2.258	0.0333	
b2	-0.000040	0.00108641	-0.037	0.9711	
R² = 91.83%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	32852.729919	32852.729919	52.916	0.000
b2	1	0.832878	0.832878	0.001	0.971
Desvio	3	212.037203	70.679068	0.114	0.951
Erro	24	14900.400000	620.850000		
*Ao nível de 5% de significância					

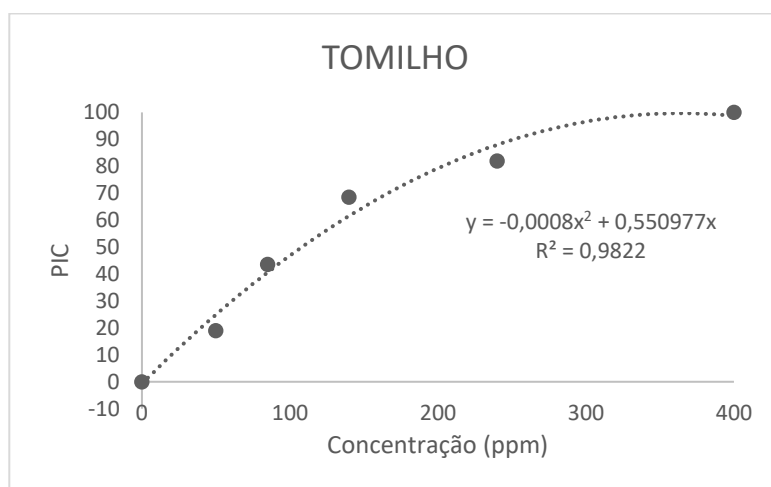


## APÊNDICE D - Análise de dados tomilho PIC e PIE

### Análise de dados tomilho PIC

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	36714.400000	7342.880000	384.444	0.0000
erro	24	458.400000	19.100000		
Total corrigido	29	37172.800000			
CV (%) =	8.37				
Média geral:	52.2000000	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 1,95448202856921					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	15.026283	1.20993411	12.419	0.0000	
b1	0.243762	0.00596424	40.871	0.0000	
R² = 86.90%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	-0.720103	1.61354996	-0.446	0.6594	
b1	0.550977	0.02166472	25.432	0.0000	
b2	-0.000756	0.00005124	-14.750	0.0000	
R² = 98.22%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	31904.799395	31904.799395	1670.408	0.000
b2	1	4155.675474	4155.675474	217.575	0.000
Desvio	3	653.925131	217.975044	11.412	0.000
Erro	24	458.400000	19.100000		
*Ao nível de 5% de significância					

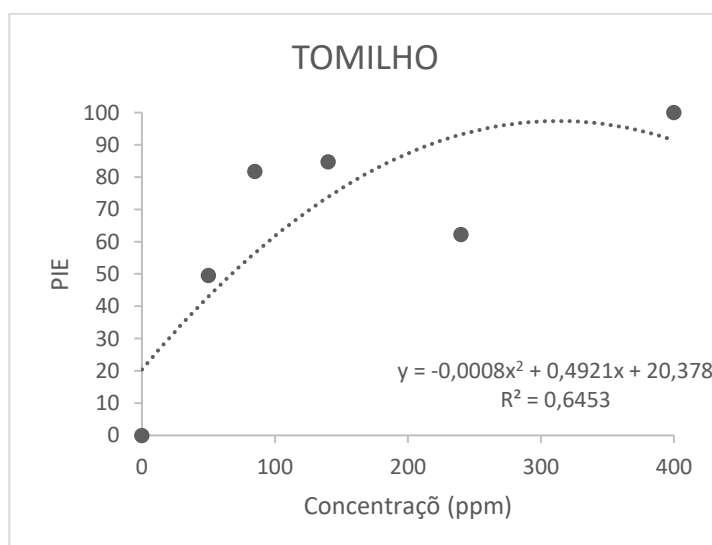
\*Ao nível de 5% de significância





## Análise de dados tomilho PIE

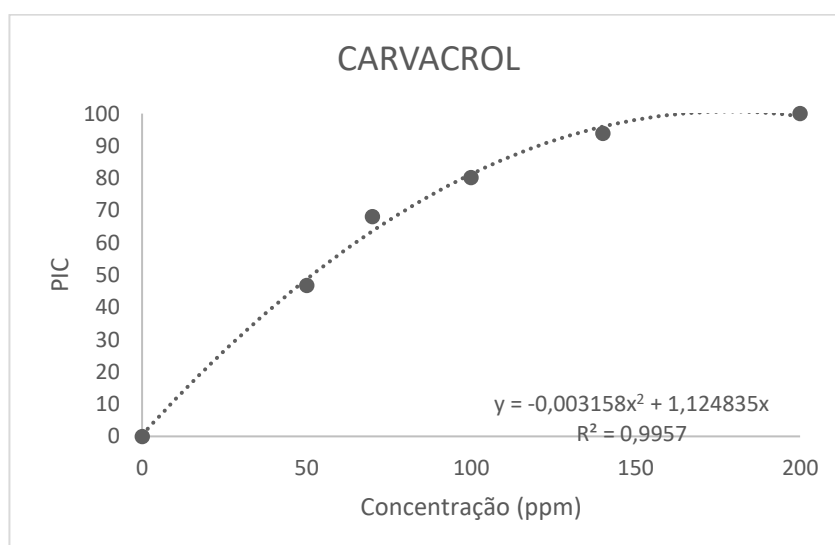
TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	31734.266667	6346.853333	79.684	0.0000
erro	24	1911.600000	79.650000		
Total corrigido	29	33645.866667			
CV (%) =	14.15				
Média geral:	63.0666667	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 3,99124040869502					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	36.756645	2.47080191	14.876	0.0000	
b1	0.172525	0.01217954	14.165	0.0000	
R² = 50.36%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr>> t	
b0	20.378348	3.29502431	6.185	0.0000	
b1	0.492069	0.04424145	11.122	0.0000	
b2	-0.000786	0.00010463	-7.513	0.0000	
R² = 64.53%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	15981.828844	15981.828844	200.651	0.000
b2	1	4495.906442	4495.906442	56.446	0.000
Desvio	3	11256.531381	3752.177127	47.108	0.000
Erro	24	1911.600000	79.650000		
*Ao nível de 5% de significância					



## APÊNDICE E - Análise de dados carvacrol PIC e PIE

### Análise de dados tomilho PIC

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	34269.424980	6853.884996	170.962	0.0000
erro	24	962.164612	40.090192		
Total corrigido	29	35231.589592			
CV (%) =	9.75				
Média geral:	64.9566053	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 2,83161410331858					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	19.855882	2.03968207	9.735	0.0000	
b1	0.483222	0.01800498	26.838	0.0000	
R <sup>2</sup> = 84.26%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	0.497698	2.65035777	0.188	0.8526	
b1	1.124835	0.05891101	19.094	0.0000	
b2	-0.003158	0.00027607	-11.439	0.0000	
R <sup>2</sup> = 99.57%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	28876.604362	28876.604362	720.291	0.000
b2	1	5245.418843	5245.418843	130.840	0.000
Desvio	3	147.401775	49.133925	1.226	0.322
Erro	24	962.164612	40.090192		
*Ao nível de 5% de significância					



## Análise de dados carvacrol PIE

TABELA DE ANÁLISE DE VARIÂNCIA					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>Fc
CONC	5	53594.560000	10718.912000	114.138	0.0000
erro	24	2253.888000	93.912000		
Total corrigido	29	55848.448000			
CV (%) =	13.75				
Média geral:	70.4800000	Número de observações:	30		
REGRESSÃO					
Média harmônica do número de repetições (r): 5					
Erro padrão de cada média dessa FV: 4,33386663385019					
MODELO LINEAR					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	22.649057	3.12179194	7.255	0.0000	
b1	0.512474	0.02755714	18.597	0.0000	
R² = 60.60%					
MODELO QUADRÁTICO					
Parâmetro	Estimativa	SE	t para H0: Par=0	Pr> t	
b0	-6.201286	4.05644862	-1.529	0.1394	
b1	1.468698	0.09016499	16.289	0.0000	
b2	-0.004706	0.00042253	-11.138	0.0000	
R² = 82.34%					
SOMAS DE QUADRADOS SEQUENCIAIS - TIPO I (TYPE I)					
FV	GL	SQ	QM	F valor	Pr>F
b1	1	32478.577164	32478.577164	345.841	0.000
b2	1	11650.724015	11650.724015	124.060	0.000
Desvio	3	9465.258820	3155.086273	33.596	0.000
Erro	24	2253.888000	93.912000		
*Ao nível de 5% de significância					

